

Université de Montréal

**L'expectoration induite
dans le diagnostic d'asthme professionnel**

par Frédéric Girard

Département de médecine

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade de:

Maître ès sciences (M.Sc.)

en sciences biomédicales

2004

© Frédéric Girard, 2004

Université de Montréal



W

4

U58

2005

V.100

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

**« L'expectoration induite
dans le diagnostic d'asthme professionnel »**

présenté par :

Frédéric Girard

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Docteur François Madore

président-rapporteur

Docteur Catherine Lemièr

directeur de recherche

Docteur Louis Philippe Boulet

membre du jury

Mémoire accepté le :

Résumé

L'asthme professionnel (AP) est la manifestation respiratoire d'origine professionnelle la plus fréquente dans les pays industrialisés, et son diagnostic de certitude repose sur un examen de réalisation difficile, le test de provocation spécifique (TPS).

L'expectoration induite (EI) s'est imposée ces dix dernières années comme une investigation non-invasive, fiable et reproductible de l'inflammation bronchique. L'objet de ce travail a été de déterminer quelle pourrait être la place de l'EI dans la stratégie diagnostique de l'AP.

Dans un premier temps, une mise au point est faite sur l'état actuel des connaissances sur l'AP et ses méthodes diagnostiques, puis sur l'EI.

Dans un deuxième temps, nous présentons les résultats de deux études prospectives évaluant l'EI dans l'AP.

Dans l'article 1, quarante neuf patients suspects d'AP sont investigués au travail et hors travail, puis sont départagés entre AP et non AP par le test de référence, le TPS. Les résultats principaux montrent d'une part, qu'il existe une éosinophilie bronchique significative au travail chez les patients ayant un AP qui ne se retrouve pas chez les non AP, et d'autre part, qu'il existe une neutrophilie bronchique significative au travail chez les non AP qui n'est pas retrouvée chez les AP. Par ailleurs, l'addition de l'EI aux investigations habituelles au travail et hors travail - comme la mesure sériée des débits expiratoires de pointe (DEP) et la mesure de l'hyperréactivité bronchique non spécifique (HRBNS) - améliore la sensibilité et la spécificité de ces examens lorsqu'on les compare au TPS.

Dans l'article 2, quinze patients ayant un AP prouvé par TPS sont explorés au travail et hors travail, puis avant et après TPS. Les résultats montrent qu'il existe une éosinophilie bronchique au travail significative, quel que soit le poids moléculaire (pm) de l'agent sensibilisant, et que par contre, il existe une neutrophilie post TPS significative chez les patients exposés aux isocyanates, alors que les patients exposés aux agents de haut pm conservent une éosinophilie bronchique post TPS. L'inflammation bronchique est donc différente en fonction du mode d'exposition et en fonction du type d'agent, les explorations au travail/hors travail offrant l'avantage d'une exposition plus « naturelle » à l'agent que le TPS.

La conclusion est que l'EI a une valeur informative tout à fait intéressante qui pourrait aider au diagnostic d'AP dans les investigations de routine. La stratégie diagnostique de l'AP pourrait être simplifiée et le recours au TPS moins fréquent.

Mots-clefs: asthme professionnel, expectoration induite, éosinophile, neutrophile, inflammation bronchique.

2 copies

v

Summary

Occupational Asthma (OA) is the most common cause of occupational respiratory symptoms in industrialised countries, but the gold standard for its diagnosis is difficult and still relies on a Specific Inhalation Challenge (SIC).

Induced Sputum (IS) has been proved for the last ten years to be an effective non invasive and reproducible method to investigate airway inflammation. The aim of this work was to determine what could be the place of IS in a diagnostic strategy to diagnose OA.

In the first part, diagnostic methods to investigate OA will be exposed as well as generalities about IS.

In the second part, we will present the results of two prospective studies evaluating the IS in the diagnosis of OA.

In the first article (article 1), forty nine patients suspected to have OA were investigated at work and off work, and then were distinguished in OA or non OA by the gold standard test, SIC. Major results showed that, on one hand, there was a significant eosinophilic airway inflammation at work in patients with OA, and on the other hand, there was a significant neutrophilic airway inflammation at work in patients with non OA. In addition, when added to the usual at work and off work investigations – like monitoring peak expiratory flow (PEF) and non specific bronchial reactivity – IS improved the sensibility and the specificity of these tests in comparison with SIC.

Main

SK

In the second article (article 2), fifteen patients who had OA with a positive SIC were investigated both at work and off work, and before and after SIC. There was a significant eosinophilic airway inflammation at work in all the patients, but there was a significant

neutrophilic airway inflammation after SIC only in patients exposed to isocyanates, and an eosinophilic inflammation in patients exposed to high molecular agents. We concluded that airway inflammation is different depending on the type of exposition and on the type of the agent, and that exploration at work represents a more “natural” exposition to the agent.

In summary, IS could be an interesting tool in usual investigations to diagnose OA. It could simplify the diagnostic strategy and could sometimes avoid the performance of SIC.

Key-words: occupational asthma, induced sputum, eosinophil, neutrophil, airway inflammation.

Table des matières

Résumé.....	iii
Summary.....	v
Liste des tableaux.....	x
Liste des figures.....	xi
Liste des abréviations.....	xii
Remerciements.....	xiv
Introduction.....	1
1. Définition de l'asthme professionnel.....	3
2. L'asthme professionnel: un problème socio-économique croissant	4
2.1. Fréquence.....	4
2.1.1. Etudes de populations.....	4
2.1.2. Projets sentinelles.....	6
2.1.3. Registres nationaux.....	7
2.2. Impact économique.....	8
3. Pronostic de l'asthme professionnel.....	9
3.1. Facteurs cliniques.....	9
3.2. Facteurs immunologiques.....	10
3.3. Inflammation bronchique.....	11
4. Diagnostic de l'asthme professionnel.....	12
4.1. L'anamnèse.....	12
4.2. L'approche fonctionnelle	13

4.2.1. Les épreuves fonctionnelles respiratoires.....	13
4.2.2. Monitoring des débits expiratoires de pointe.....	14
4.2.3. Association des débits expiratoires de pointe et de l'hyper-réactivité bronchique non spécifique.....	15
4.3. L'approche immunologique.....	16
4.4. Le test de provocation spécifique.....	17
4.5. Stratégie diagnostique.....	20
5. Nécessité d'une mesure de l'inflammation bronchique	21
5.1. Hétérogénéité de l'inflammation bronchique dans l'asthme.....	22
5.2. Inflammation bronchique et sévérité de l'asthme.....	23
6. Méthodes d'investigation de l'inflammation bronchique.....	24
6.1. Méthodes invasives.....	24
6.2. Méthodes non invasives.....	25
6.2.1. Monoxyde d'azote (NO) exhalé.....	25
6.2.2. Expectoration induite.....	27
7. Description de la méthode d'expectoration induite.....	28
7.1. Induction.....	28
7.2. Traitement de l'échantillon d'expectoration induite.....	28
8. Comparaison des méthodes : endoscopie versus expectoration induite	29
9. Signification de l'inflammation bronchique mesurée par l'expectoration induite.....	30
10. Expectoration induite dans l'asthme professionnel	32
Présentation de l'article 1.....	33
Article 1: "An effective strategy for diagnosing occupational asthma: use of induced sputum".....	35
Commentaires sur l'article 1.....	64

Présentation de l'article 2.....	67
Article 2: "Airway inflammation induced by occupational agents at the workplace and in the laboratory ".....	69
Commentaires sur l'article 2.....	89
Conclusion.....	92
Perspectives de recherche.....	94
Références bibliographiques.....	96
Annexe :	
Online data supplement (Article 1).....	i
Tableau : Caractéristiques de l'asthme en milieu professionnel.....	ix

Liste des tableaux

Article 1

Table I: Baseline characteristics of subjects with negative or positive specific inhalation challenges (SIC).....	58
Table II: Changes in clinical, functional and sputum cellularity before and after the at work/off work periods in subjects with negative and positive SIC.....	60
Table III: Sensitivities and specificities of PEF monitoring with and without the addition of sputum cell counts according to the different experts.....	61

Article 2

Table 1: Baseline characteristics of the subjects.....	84
Table 2: Changes in airway responsiveness and in sputum cell counts between periods at work and away from work as well as before and after exposure to isocyanates and high molecular weight agents in the laboratory.....	85
Tableau : Caractéristiques de l'asthme en milieu professionnel.....	Annexe ix

iNOS: NO synthétase inductible.

OA: Occupational asthma.

PEF: Peak expiratory flow.

SENSOR: Sentinel Event Notification System for Occupational Risks.

SIC: Specific inhalation challenge.

SWORD: Surveillance for Work-Related and Occupational Respiratory Disease.

TPS: Test de provocation spécifique.

VEMS: Volume expiratoire maximum seconde.

Remerciements

Je remercie Catherine Lemièrre pour son précieux soutien tout au long de l'élaboration de cette maîtrise. Travailler à ses côtés m'a permis d'apprécier sa rigueur dans le travail, sa grande culture médicale et de partager sa passion pour la recherche. Je n'oublierai pas non plus sa générosité et sa capacité de mise en confiance qui ont franchement facilité mon travail.

Je remercie toute l'équipe des techniciennes et secrétaires du laboratoire de physiologie respiratoire de l'Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal, ainsi que toute l'équipe de l'Axe de recherche en santé respiratoire pour leur collaboration, et tout particulièrement Liza Théolis et Simone Chaboillez.

Un grand merci à Julie Arnal pour son aide dans la relecture de ce mémoire.

Introduction

L'asthme est une entité clinique reconnue depuis l'antiquité, et déjà, la survenue des symptômes en fonction de l'environnement urbain, rural ou professionnel avait été remarquée (1).

L'asthme professionnel (AP) a connu un pic d'incidence après la deuxième guerre mondiale avec l'utilisation, à des fins industrielles, de nouvelles molécules telles que les polyuréthanes, les résines, les polyisocyanates, les anhydrides acides, les enzymes des détergents. L'AP est devenu la cause la plus fréquente de maladie respiratoire d'origine professionnelle (2,3), tandis que le nombre de pneumoconioses diminuait.

Les travaux de Pepys dans les années 1960 à 1980 ont participé à un regain d'intérêt pour cette pathologie: il a mis au point et suggéré la pratique de tests de provocation spécifiques (TPS) à l'hôpital, qui permettent de confirmer le diagnostic d'AP en induisant une broncho-constriction en présence de l'agent causal (4). Actuellement, ces tests demeurent la référence diagnostique de l'AP, malgré leur complexité et leur coût (5). De fait, Jack Pepys est considéré comme le « père de l'AP » et son nom a été donné à un symposium sur l'AP (5).

Dans les années 1980, la compréhension de la physiopathologie de l'asthme -maladie inflammatoire bronchique- a avancé de façon considérable grâce à l'exploration endoscopique permettant des prélèvements de muqueuse bronchique et l'analyse du

liquide de lavage bronchiolo-alvéolaire, et notamment par la mise en évidence l'existence d'une inflammation éosinophilique bronchique après exposition à un allergène (6).

Une méthode moins invasive d'investigation de l'inflammation bronchique est apparue depuis une dizaine d'années: l'expectoration induite. Sa simplicité et son caractère non invasif en font actuellement un examen "de routine" dans l'investigation de l'asthme dans le domaine de la recherche, mais aussi plus récemment en pratique clinique (7). Cette méthode non invasive rend donc accessible l'observation de modifications inflammatoires bronchiques après une exposition environnementale, et pourrait représenter un outil d'investigation particulièrement attrayant pour le diagnostic d'AP.

Dans la première partie de ce travail, nous ferons un rappel sur l'investigation de l'asthme professionnel ainsi que sur l'étude de l'inflammation bronchique par la méthode de l'expectoration induite (EI).

Dans la seconde partie, nous présenterons les résultats de deux études ayant évalué la place de l'expectoration induite dans l'investigation de l'AP.

1. Définition de l'asthme professionnel

Il y a plusieurs définitions de l'AP dans la littérature, conséquence probable de mécanismes physiopathologiques différents, mais celle qui est le plus communément retenue est celle de Bernstein et Chan-Yeung : l'asthme professionnel (AP) est « une maladie caractérisée par une obstruction bronchique variable et/ou une hyper réactivité bronchique secondaire à des causes et des conditions attribuables à un environnement particulier au lieu de travail, et non rencontrées dans l'environnement extra professionnel » (8).

On individualise généralement deux types d'AP, selon la latence de survenue des symptômes :

l'asthme professionnel avec période de latence, est un asthme qui se développe plusieurs semaines ou années après exposition à l'agent sensibilisant, dont le mécanisme immunologique est bien démontré pour les agents de haut poids moléculaire (pm) et pour certains agents de bas poids moléculaire ,

l'asthme professionnel sans période de latence, encore appelé syndrome d'irritation des bronches ou « reactive airways dysfunction syndrome ». Celui-ci survient après une ou plusieurs expositions à de fortes concentrations d'agents irritants non spécifiques.

L'absence de période de latence suggère un mécanisme irritatif induisant le trouble ventilatoire obstructif et l'hyper réactivité bronchique.

On voit que le type de l'inflammation bronchique et donc, dans une certaine mesure, le mécanisme d'inflammation bronchique, n'est pas une caractéristique qui est prise en compte dans la définition de l'AP (selon Bernstein et Chan Yeung), laquelle repose

essentiellement sur la présence de changements fonctionnels respiratoires (obstruction bronchique et/ou une hyperréactivité bronchique non spécifique (HRBNS)) causés par le milieu de travail. Or, l'obstruction bronchique et l'HRBNS sont probablement des marqueurs indirects des changements inflammatoires. L'analyse de l'inflammation bronchique amène un nouvel éclairage sur différentes entités cliniques comme l'AP avec période de latence (qui comporte une inflammation bronchique éosinophilique), l'asthme aggravé par le travail, le « potroom asthma » des travailleurs de l'aluminium, les syndromes asthmatiques déclenchés par l'inhalation d'endotoxines (dans lesquels on retrouve plutôt une inflammation bronchique neutrophilique), dont les manifestations fonctionnelles seront semblables, mais dont le mécanisme inflammatoire - et donc la physiopathologie- sera différent (cf tableau en annexe).

2. L'asthme professionnel, un problème socio-économique croissant

2.1 Fréquence

2.1.1 *Les études de populations*

Prévalence de l'AP chez les patients asthmatiques:

Plusieurs études ont été réalisées chez des patients asthmatiques, comportant des renseignements sur l'environnement au travail et les symptômes évocateurs d'asthme.

Le risque d'asthme attribuable au travail a ainsi pu être estimé à 5% de la population générale en Espagne (95%CI, 2.4%-10.6%) (9). Ces résultats sont également rapportés

dans une étude plus vaste regroupant 15 637 adultes de 12 pays industrialisés dans laquelle la proportion d'asthme attribuable à la profession était de 5 à 10% (10). Plus récemment, au Canada, l'AP possible ou probable a pu être estimé à 15.7% (95% CI: 12.0-19.3%) des asthmatiques, et 36.1% (95%CI, 31.3%-41%) dans la sous-population développant un asthme à l'âge adulte. Le risque attribuable à la population, pour les asthmes survenus à l'âge adulte dans les professions et expositions à haut risque, était de 18.2% (11).

On peut, à l'inverse, estimer la proportion de patients suspects d'AP chez des asthmatiques référés à une institution spécialisée. C'est le travail effectué par Tarlo et al (12) qui ont étudié 731 adultes asthmatiques: 435 patients avaient un asthme survenu à l'âge adulte, et sur les 310 patients toujours en activité au moment de l'étude, 51 (16%) rapportaient une détérioration des symptômes au travail. Les auteurs ont essayé d'étayer le diagnostic d'AP chez ces 51 sujets avec des tests plus objectifs (tests cutanés, monitoring des DEP, test à la méthacholine, TPS) et ont conclu au diagnostic d'AP probable chez 16 patients (5% des 310 sujets actifs).

Les variations dans les estimations peuvent refléter une vraie variation de la prévalence de l'AP selon les pays et leur niveau d'industrialisation, mais elles peuvent également résulter de différences de méthodologie entre les études (différence dans la définition et le diagnostic de l'asthme) ainsi que d'un biais de sélection dans les populations étudiées. Une autre limite de ces études est qu'il n'y a pas de confirmation de l'AP, puisqu'elles sont basées sur des questionnaires. Elles ont cependant l'avantage d'inclure les patients qui ont quitté leur emploi du fait d'un AP.

Ces données suggèrent que l'AP devrait être suspecté chez 1 asthmatique sur 10 ou sur 20, et non pas que l'AP atteint 5 à 10% des asthmatiques (13).

Incidence d'AP dans les milieux professionnels à haut risque:

Les études prospectives sont intéressantes d'un point de vue méthodologique, mais peu nombreuses du fait de la difficulté de leur réalisation. Elles mettent en avant le rôle du niveau d'exposition à l'agent sensibilisant dans la genèse de l'AP. Gautrin et al. ont retrouvé une incidence élevée d'AP probable (2.7%, 28/1043 personnes années) dans une cohorte de 417 apprentis exposés aux animaux de laboratoire suivis pendant 44 mois. L'AP probable était défini par un test cutané positif à un allergène du milieu de travail et par une chute de 3.2 fois la concentration de méthacholine induisant une baisse de 20% du VEMS (CP20) (14).

2.1.2 Les projets "sentinelles"

Le recueil des déclarations volontaires de médecins (les projets "sentinelles") ont permis de montrer que l'AP est la maladie professionnelle respiratoire la plus fréquente. Les plus connus sont le SWORD (Surveillance of Work-Related Occupational Respiratory Diseases) du Royaume Uni (2) et le SENSOR (Sentinel Event Notification System for Occupational Risks) des Etats Unis (15). Les résultats obtenus sont variables selon les pays.

Au Québec, des taux d'incidence d'AP de 79/million de travailleurs/an ont été obtenus pour les hommes et de 42/million/an pour les femmes (16). En France, l'Observatoire

National des Asthmes Professionnels (ONAP) a récemment rapporté un taux de 24/million/an (17).

Ces variations dans les résultats peuvent refléter des conditions de travail et d'exposition différentes. Cependant, elles témoignent surtout de méthodes et de définitions différentes et reposent en grande partie sur la motivation du médecin déclarant (18). Dans la plupart d'entre elles en effet, le diagnostic d'AP est basé sur des questionnaires et l'appréciation d'un médecin, ce qui est une méthode sensible, mais peu spécifique (19).

2.1.3 Registres nationaux

Les données médico-légales sur l'AP varient d'un pays à l'autre, notamment du fait des variations dans les compensations financières des travailleurs. Une compensation insuffisante peut dissuader le travailleur de poursuivre les démarches de reconnaissance de sa maladie, comme c'est le cas en France (20).

D'autre part, le diagnostic d'AP n'est pas établi de la même façon selon les pays, et la confirmation par le test de référence qu'est le TPS n'est pas courante, ce qui participe à l'imprécision des résultats.

Le Québec et la Finlande ont l'avantage d'offrir une compensation financière large et le diagnostic d'AP y est établi par les TPS et/ou le monitoring des DEP.

L'incidence des AP ainsi documentés, est de 17.4 cas/100 000 travailleurs en Finlande, entre 1989 et 1995 (21), alors qu'elle n'est que de 2 cas/100 000 au Québec (22). Bien que difficile à expliquer, cette différence dans les résultats pourrait résulter d'une plus grande incidence d'AP chez les fermiers en Finlande.

En résumé, les données établies à partir de ces études souffrent des différences de méthodologie, de définition de l'AP et d'un biais de sélection dû au biais du travailleur sain ("healthy worker effect"). Néanmoins on estime qu'environ 10% des asthmes ayant débuté à l'âge adulte sont attribuables au travail (18), ce qui représente un nombre considérable de patients en raison de la prévalence élevée de l'asthme dans la population (23).

2.2 Impact économique

L'AP a des conséquences sociales et économiques pour l'individu, l'employeur et la société, d'autant que les sujets concernés sont plus jeunes que dans les autres pathologies respiratoires d'origine professionnelle. La compensation offerte change selon les législations des pays, mais reste généralement insuffisante.

En France par exemple, les patients ayant un AP reçoivent une indemnité temporaire de 50 à 66% du salaire, les possibilités de reclassement professionnel sont limitées, ce qui explique vraisemblablement que 32% d'entre eux préfèrent conserver le même travail et sont, de ce fait, toujours exposés (20).

Le coût de l'AP varie donc considérablement selon les pays et le mode de compensation offert (24).

Au Québec, le coût d'un AP pendant la période de 1986 à 1988 était d'environ 49 200 \$CAN (minimum 2 100\$, maximum 330 900\$), somme qui incluait l'incapacité temporaire de travail (90% du salaire), le coût d'un programme de formation et/ou

l'allocation d'une pension permanente d'invalidité, ainsi que les coûts médicaux et techniques (25).

3. Pronostic de l'asthme professionnel

Puisque l'AP est causé par un agent spécifique, il serait logique de penser que l'éviction de cet agent permettrait l'amendement des symptômes, mais cela n'est pas vérifié en pratique, puisque moins de 50% des patients ont une évolution favorable (27, 100). Même plusieurs années après arrêt de l'exposition, des symptômes cliniques et une hyperréactivité bronchique non spécifique (HRBNS) persistent chez la plupart des patients (26). Certains facteurs pronostiques détaillés ci-dessous ont pu être identifiés.

3.1 Facteurs cliniques

Dans une étude de suivi de 232 patients ayant un asthme au cèdre rouge, on note que parmi 136 patients n'étant plus exposés, 55 (40.4%) sont asymptomatiques, alors que 81 (59.6%) présentent toujours des symptômes. On note que les 55 patients asymptomatiques ont été exposés moins longtemps avant l'apparition des symptômes, et que la durée des symptômes avant le diagnostic est plus courte, lorsqu'on les compare aux 81 patients toujours symptomatiques. Les auteurs en déduisent que les 55 patients ayant une évolution favorable ont vraisemblablement été diagnostiqués à un stade plus précoce de la maladie. Un diagnostic précoce serait donc de bon pronostic, permettant ainsi une éviction précoce du milieu professionnel (27).

3.2 *Facteurs immunologiques*

Dans une étude concernant 31 patients ayant un AP aux crabes des neiges, Malo et al ont étudié la cinétique dans le temps du VEMS et de l'hyper réactivité bronchique (HRBNS) et des IgE spécifiques (12/31 patients avaient des taux très élevés). Ils ont constaté une amélioration parallèle dans l'ordre, du VEMS, de l'HRBNS et des IgE spécifiques -bien qu'aucune corrélation n'ait pu être établie entre les IgE spécifiques et les paramètres fonctionnels et cliniques (28).

On peut supposer que chez les patients ayant un asthme IgE-médié, la persistance de taux élevés d'IgE alors que le patient n'est plus exposé, pourrait expliquer la persistance des symptômes d'asthme.

L'asthme IgE-médié pourrait avoir un meilleur pronostic que l'asthme IgE négatif. Dans une étude rétrospective évaluant 245 patients ayant eu un asthme aux isocyanates entre 1976 et 1992, Piirila et al retrouvent une évolution plus favorable dans le groupe de patients IgE positifs (21.9% des 146 patients évalués), en terme de persistance des symptômes et de prise de broncho-dilatateurs, que dans le groupe des patients IgE négatifs (29). Dans cette étude, les auteurs retrouvent également une phase de latence plus courte chez les patients ayant des IgE positifs, ceux-ci développant des symptômes plus précocement que les patients IgE négatifs. Ce qui suggère qu'il existe un lien entre la présence de ces anticorps et la survenue des symptômes d'asthme. La conséquence serait une durée d'exposition moindre à l'allergène, et pourrait peut-être expliquer, en partie, le meilleur pronostic observé chez ces patients.

3.3 Inflammation bronchique

La persistance d'une inflammation bronchique éosinophilique semble étroitement associée à la sévérité de l'asthme.

Paggiaro et al ont mesuré l'HRBNS et l'inflammation bronchique par lavage broncho-alvéolaire (LBA) et biopsies bronchiques chez 10 patients ayant un asthme au TDI mais n'étant plus exposés depuis 3 à 39 mois (30). Une amélioration de l'HRBNS était notée chez 5 patients et seulement 1/5 avaient une augmentation des éosinophiles dans le LBA. Par contre, les éosinophiles étaient augmentés chez 4/5 des patients ayant une détérioration de l'HRBNS. Ces données montrent que la persistance d'une HRBNS dans l'asthme au TDI est associée – ce qui suggère un lien de cause à effet - à une réaction inflammatoire éosinophilique.

Ces résultats sont similaires à ceux de Maghni et al qui ont comparé l'EI et l'HRBNS de patients ayant un AP mais n'étant plus exposés à l'agent sensibilisant depuis 0,5 à 20,8 années (moyenne 8,7 années). Chez les 28 patients n'ayant pas d'amélioration de l'HRBNS (CP20 inférieure strictement à 3,2 fois la CP20 initiale), il existait une majoration de l'inflammation bronchique significative quand on la comparait aux 56 patients ayant une normalisation ou une amélioration (CP20 supérieure ou égale à 3,2 fois la CP20 initiale) de l'HRBNS. Les auteurs notaient la persistance d'une éosinophilie bronchique $\geq 2\%$ dans 32,1% des cas du premier groupe versus 10,7% dans le deuxième groupe, mais également d'une inflammation neutrophilique $\geq 61\%$ respectivement chez 39,3% et 19,6% des patients des deux groupes (31).

Il a également été montré que chez les patients ayant un asthme non professionnel, l'éosinophilie bronchique $\geq 2\%$ (mesurée par expectoration induite) est très fortement associée à la persistance d'un trouble ventilatoire obstructif (32).

4. Diagnostic

4.1. L'anamnèse

L'interrogatoire est une étape préliminaire indispensable mais insuffisante pour établir le diagnostic d'AP. Le diagnostic d'AP devrait être suspecté devant tout patient chez qui survient un asthme à l'âge adulte. Il faut également suspecter le diagnostic chez un patient qui est exposé à un agent sensibilisant connu.

L'histoire typique est celle d'un patient présentant des symptômes d'asthme, aggravés ou déclenchés par l'exercice professionnel, qui s'améliorent lors des fins de semaines ou des vacances. Des symptômes de rhinite et de conjonctivite précèdent souvent l'apparition de l'AP (33) et doivent être recherchés, surtout chez les patients exposés à des agents de haut poids moléculaire.

Cependant, la présentation est rarement aussi simple, les patients pouvant avoir des symptômes en dehors du lieu de travail, parfois déclenchés par des irritants non spécifiques (air froid, fumée), ou bien encore avoir des réactions retardées qui vont se manifester à domicile. D'autre part, la période du week-end est bien souvent trop courte pour permettre la disparition complète des symptômes. Le lien de cause à effet devient alors moins évident pour le patient et pour le praticien.

Dans une étude prospective de 162 patients adressés pour suspicion d'AP, la valeur prédictive négative du questionnaire était de 83%, mais la valeur prédictive positive n'était que de 63% (19). C'est à dire que dans plus d'un tiers des cas, les patients n'avaient pas d'AP alors même que le questionnaire était suggestif, et réalisé dans cette étude par des cliniciens experts en AP.

C'est pourquoi, même une histoire très suggestive n'est pas suffisante pour établir le diagnostic d'AP.

4.2. L'approche fonctionnelle :

4.2.1. *Les épreuves fonctionnelles respiratoires*

L'asthme peut être confirmé par l'existence d'une réversibilité de plus 12% de l'obstruction bronchique (ou d'une amélioration de plus de 200 ml en valeur absolue) après administration de bêta2 –agonistes, mesurée par le volume expiratoire maximal en une seconde (VEMS) (34). Cependant, la spirométrie est le plus souvent normale au moment de la consultation.

La majoration de l'HRBNS après une période au travail, et son amélioration pendant les périodes de repos, sont des arguments en faveur d'un AP. Une augmentation de 3 fois la CP20 (concentration de méthacholine provoquant une baisse de 20% du VEMS) après une période hors travail est considérée comme significative (34). Cependant l'amélioration de l'HRBNS nécessite un retrait de l'exposition à l'agent dont la durée est

variable. Certains asthmatiques sensibilisés ne verront une amélioration significative qu'après plusieurs semaines hors travail.

D'autre part, bien que l'HRBNS soit une caractéristique majeure de l'asthme, elle peut s'observer également chez des patients ayant une rhinite ou une maladie pulmonaire obstructive chronique (MPOC) post-tabagique.

La présence d'une HRBNS chez un patient ayant une exposition professionnelle est donc évocatrice d'AP, mais elle ne confirme pas réellement le diagnostic. Elle peut même être absente, dans de rares observations d'AP (35), ou plus souvent, du fait que le patient a quitté son lieu de travail et n'est plus exposé.

A l'inverse, un test à la méthacholine négatif chez un patient exposé régulièrement, rend le diagnostic d'AP peu probable.

4.2.2. Monitoring des débits expiratoires de pointe (DEP)

Burge et col ont utilisé les premiers les mesures de débits expiratoires de pointe (DEP) pendant des périodes au travail et hors travail, à visée diagnostique dans l'asthme professionnel (36).

La sensibilité et la spécificité de cette méthode ont pu être estimées, par rapport au test de référence qui est le test de provocation spécifique, dans deux études (37, 38). Les auteurs ont obtenu respectivement une sensibilité de 81 et 89% et une spécificité de 74 et 89%. Dans ces deux études, l'interprétation des DEP était faite visuellement par des experts, méthode considérée comme la plus efficace pour évaluer la variabilité des DEP (39). La mesure répétée des DEP semble donc une méthode diagnostique

intéressante. Cependant, dans ces deux études, le calcul de sensibilité et spécificité était réalisé à partir d'un consensus de l'interprétation de plusieurs experts. Ce qui a pour conséquence, d'une part, de surestimer la sensibilité et la spécificité en ne prenant pas en compte les cas douteux, et d'autre part, ne correspond pas à la pratique clinique courante, au cours de laquelle l'interprétation repose généralement sur un seul médecin. Ainsi, dans l'étude de Liss (40), la sensibilité et la spécificité des DEP dans le diagnostic d'AP diminuent-elles respectivement de 93 à 72% et de 77 à 53% lorsqu'on inclut dans l'analyse les cas dont l'interprétation est douteuse.

Ces variations de sensibilité et de spécificité peuvent également s'expliquer par les contraintes qu'impose cette méthode d'exploration. Dans les conditions optimales, les DEP devraient être mesurés toutes les 2 heures (41) et pendant une période d'au moins 2 semaines, au travail et hors travail, sans que le traitement de fond de l'asthme (s'il y en a un) ne soit modifié. Les patients ayant un asthme sévère ou ayant perdu leur travail ne peuvent donc pas être explorés de cette façon.

Mais les principales limites de l'exploration par DEP sériés sont, d'une part, son caractère effort-dépendant et d'autre part la faible compliance des patients, qui est estimée à 50% environ (42, 43).

4.2.3. L'association du monitoring de l'HRBNS à celui des DEP pendant les périodes au travail et hors travail est couramment utilisée en pratique clinique pour faire le diagnostic d'AP.

Lorsque les 2 méthodes sont couplées, des résultats concordants sont très évocateurs d'AP, tandis que des résultats discordants doivent faire continuer les investigations.

Par contre, deux résultats négatifs permettent quasiment d'exclure le diagnostic.

Cependant, Côté (37) et Perrin (38) ont montré que l'ajout de la mesure de l'HRBNS n'améliore pas la sensibilité et la spécificité dans le diagnostic d'AP par le monitoring des DEP au travail et hors travail.

C'est pourquoi la surveillance des DEP et de l'HRBNS est plus volontiers utilisée comme une méthode de dépistage de l'AP, lorsque les agents sensibilisants sont multiples ou inconnus.

4.3. L'approche immunologique

La positivité des tests cutanés immédiats, ou l'augmentation des IgE ou IgG spécifiques, reflète l'exposition du sujet à un agent et sa sensibilisation, mais n'indique pas que l'asthme est induit par cet agent. Cela est bien démontré avec des agents comme le crabe des neiges (44) et les isocyanates (45).

A l'inverse, un test cutané négatif pour un agent de haut poids moléculaire rend le diagnostic d'AP à cet agent très peu probable. Ceci est moins clair pour les agents de bas poids moléculaire (isocyanates, cèdre rouge), pour lesquels, ni les tests cutanés (lorsque les préparations pour les réaliser sont disponibles), ni les taux d'IgE et d'IgG spécifiques, ne peuvent confirmer ni réfuter le diagnostic d'AP (45).

Bernstein et al ont récemment mis en évidence une production in vitro de MCP-1 par des monocytes périphériques préalablement stimulés par des diisocyanates conjugués à de l'albumine. Dans une population de 19 patients ayant un AP aux diisocyanates prouvé

par TPS, et de 35 n'ayant pas d'AP, la sensibilité et la spécificité de ce test étaient respectivement de 79 et de 91% (46).

Cette technique, certes prometteuse, n'est disponible actuellement que pour les diisocyanates, et reste du domaine de la recherche.

4.4 Le test de provocation bronchique spécifique (TPS)

Les TPS sont toujours considérés comme le test de référence diagnostique de l'AP, et consistent à étudier les modifications cliniques et fonctionnelles du patient lors de l'exposition à un agent professionnel en laboratoire ou dans son milieu professionnel. Des tests en laboratoire reproduisant les conditions de travail ont été imaginés et mis en œuvre par l'équipe de Pepys (47). Il s'agissait initialement de tests « réalistes », au cours desquels on demandait au patient de reproduire son travail habituel; puis est apparue la nécessité de mesurer la concentration dans l'environnement de ces agents, dont certains - notamment les isocyanates - sont des irritants à fortes doses. Depuis une dizaine d'années, on dispose de circuits fermés permettant de contrôler au mieux la concentration et la durée d'exposition de certains agents (48, 49) et qui auraient l'avantage de provoquer moins de broncho-contractions sévères que les tests réalistes (50).

Ces tests ne sont habituellement pas dangereux mais nécessitent d'être supervisés par un médecin spécialisé ainsi que la présence d'une réanimation proche en cas de réaction sévère. Ces examens sont longs, requièrent une équipe très entraînée, ce qui explique en partie qu'ils ne sont réalisés que dans certains centres spécialisés.

La méthodologie n'est pas standardisée, mais elle est bien décrite (51). En résumé, les patients sont évalués une première journée (jour contrôle) pendant environ 8 heures, au cours de laquelle ils sont exposés soit à rien, soit simplement à des irritants (lactose, diluant de peinture, résine), de manière à s'assurer que l'asthme est stable. La variation du VEMS au cours de cette journée « contrôle » ne doit pas excéder 10%. Le VEMS est contrôlé toutes les 10 minutes pendant la première heure, toutes les 30 minutes la deuxième heure, puis toutes les heures pendant une durée de 8 heures après la première exposition. A la fin de la journée contrôle, on détermine l'HRBNS, habituellement par un test à la méthacholine, exprimé en dose (mg/ml) provoquant une chute de 20% du VEMS (CP20). L'importance de l'HRBNS permettra de déterminer la concentration de départ de l'exposition à l'agent, qui sera d'autant plus faible que l'HRBNS est sévère. Le traitement de fond (corticoïdes inhalés, cromoglycate sodique, nédocromil) doit être poursuivi de manière à éviter toute exacerbation de l'asthme. Les broncho-dilatateurs de courte durée d'action (bêta 2 agonistes, anticholinergiques) doivent être arrêtés 8 heures avant le test. Les broncho-dilatateurs de longue durée d'action (bêta 2 à longue durée d'action, théophylline) sont arrêtés 48 à 72 heures avant le test, sauf si l'asthme est instable à l'arrêt de ce traitement.

Le jour suivant, les patients sont exposés à des concentrations croissantes de l'agent suspecté (la concentration initiale est déterminée selon le niveau de la CP 20 calculée lors du jour contrôle). La réactivité est mesurée par des VEMS répétés, selon les mêmes modalités que lors du jour contrôle. Une réponse est jugée positive si l'on observe une chute du VEMS persistante d'au moins 20% par rapport au VEMS initial. On peut obtenir différents types de réponses (52):

- **immédiate**, survenant 10 à 30 minutes après l'exposition et résolutive en 1 à 2 heures,
- **retardée**, survenant progressivement 1 à 2 heures après l'exposition (précoce) ou 4 à 8 heures (tardive),
- **double**, qui associe réponse immédiate et retardée.

Certaines réactions atypiques ont également été décrites, surtout avec les agents de bas poids moléculaire:

- **progressive**, débutant dans les minutes suivant l'exposition et se poursuivant pendant 7 à 8 heures,
- **immédiate prolongée** : il s'agit d'une réaction immédiate mais dont la réversibilité est très progressive,
- « **square-waved** » : réaction à la fois immédiate et prolongée sans réversibilité entre les 2 composantes.

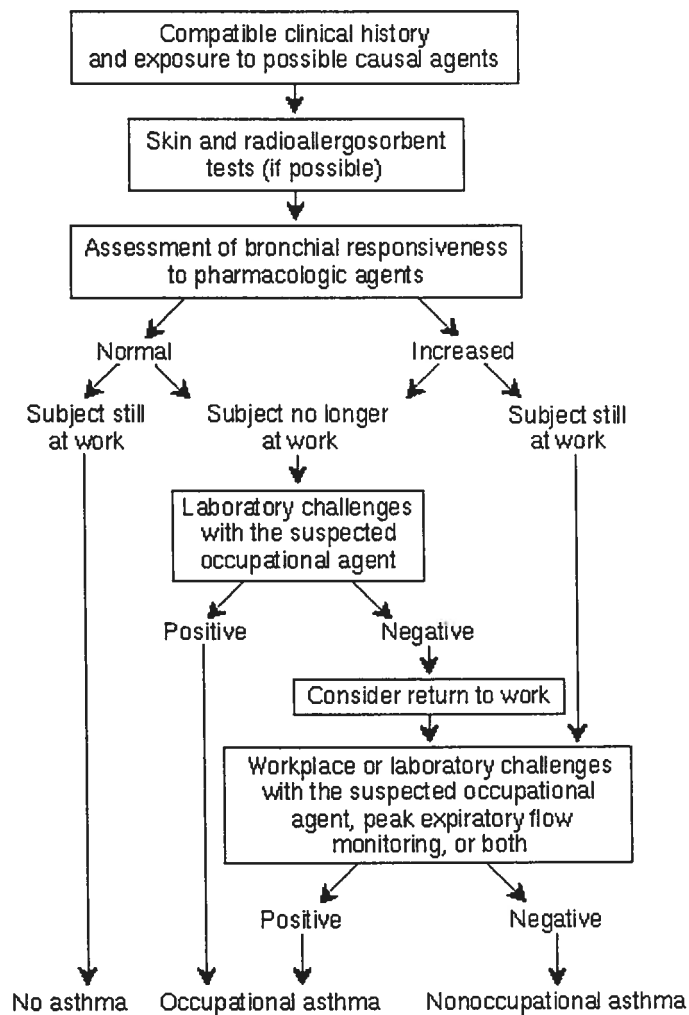
Les faux positifs sont rares et surtout observés chez les patients ayant un asthme instable, avec une variabilité importante du VEMS lors de la journée contrôle. Un TPS positif permet donc de confirmer le diagnostic d'AP.

Par contre un TPS négatif n'élimine pas formellement ce diagnostic. Certains patients ayant eu un test positif, mais qui ne sont plus exposés pendant une durée variable, peuvent négativer leur test. Cette situation concernait 5 patients sur 16 dans une étude de Lemièrre et al (53). C'est pourquoi l'exposition à l'agent sensibilisant au cours du TPS doit être suffisamment prolongée, pouvant atteindre parfois 2 à 4 heures.

D'autre part, le TPS peut être négatif en cas d'incertitude sur l'agent suspecté, ou si les agents sont multiples. On réalise alors habituellement un test sur le lieu de travail.

4.5 Stratégie diagnostique

En pratique, le diagnostic positif d'AP est souvent une démarche compliquée dont le préalable est une histoire clinique évocatrice qui peut être résumée par le tableau ci-dessous.



Légende: algorithme pour l'investigation d'un asthme professionnel. D'après N Engl J Med.

1995 ;333 :107-112. (3)

Les stratégies mises en oeuvre pour confirmer l'AP varient selon les ressources et le pays, elles sont étroitement liées aux aspects médico-légaux et à la compensation attribuée au travailleur. Les recommandations récentes insistent sur la nécessité de confirmer le diagnostic d'AP par des tests objectifs (54). Au Québec, le diagnostic repose le plus souvent sur la réalisation d'un TPS alors que cet examen est rarement réalisé aux États unis d'Amérique ou en France.

5. Nécessité d'une mesure de l'inflammation bronchique

L'inflammation bronchique est une des caractéristiques principales de l'asthme, elle est étroitement liée aux autres manifestations de l'asthme que sont la symptomatologie clinique, le trouble ventilatoire obstructif (TVO) réversible et l'HRBNS. Comme vu plus haut (chap.2.3.3), l'inflammation bronchique pourrait également avoir une valeur pronostique.

Une inflammation persistante pourrait générer les dégradations structurelles irréversibles responsables du remodelage bronchique des asthmes sévères: atteinte épithéliale, épaissement de la membrane basale, accentuation de la vascularisation, prolifération myofibroblastique, hypertrophie et hyperplasie des muscles lisses (55).

C'est pourquoi, un des objectifs principaux dans la prise en charge de l'asthme est la prévention et le traitement de l'inflammation bronchique (56).

5.1 Hétérogénéité de l'inflammation bronchique dans l'asthme

L'asthme allergique est caractérisé par une sensibilisation à un allergène (IgE-médiée) avec réponse lymphocytaire CD4⁺ Th2 qui entraîne une libération d'IL5 et une inflammation éosinophilique des voies aériennes. Cette inflammation peut à son tour déterminer une HRBNS et le développement d'un trouble ventilatoire obstructif (TVO) réversible.

Cependant, ce mécanisme éosinophilique ne serait retrouvé que dans la moitié des asthmes. Dans une analyse des études réalisées entre 1995 et 2002 chez des patients asthmatiques explorés par biopsies bronchiques, lavages broncho-alvéolaires ou expectoration induite (EI), Douwes et al ne retrouvent une inflammation éosinophilique que dans 51% des cas (57). Dans 49% des cas d'asthme, le mécanisme est non éosinophilique (donc vraisemblablement non allergique) et dominé par une inflammation neutrophilique. Celle-ci fait intervenir les macrophages, les cellules épithéliales et aboutit à une infiltration bronchique par des neutrophiles activés par le biais de différentes cytokines incluant IL-1, IL-6, IL-8 et TNF- α (57).

Dans l'AP, si l'asthme développé au contact de substances de haut poids moléculaire est comparable à l'asthme commun allergique, le mécanisme d'action des substances de bas poids moléculaire est moins clair et parfois à l'origine d'une inflammation neutrophilique comme avec les isocyanates (58). On retrouve également une inflammation neutrophilique dans certaines entités « frontières » avec l'asthme, les « asthma like syndromes » rencontrés surtout chez les fermiers, que l'on observe après exposition à des poussières organiques (57).

Enfin, Anees et al ont étudié l'EI de 38 patients ayant un AP aux agents de bas poids moléculaire et toujours exposés; ils ont ainsi déterminé deux groupes, l'un ayant une éosinophilie bronchique $> 2,2\%$ ($n= 14$), l'autre non-éosinophilique ($n= 24$).

Comparativement, les patients ayant une éosinophilie bronchique avaient une obstruction bronchique et une HRBNS plus marquées que dans l'autre groupe. De façon intéressante, il existait également dans les deux groupes une neutrophilie bronchique de - respectivement - $59,5\%$ ($19,6\%$) et $55,1\%$ ($18,8\%$) (59). Bien que le diagnostic d'AP ne repose pas, dans cette étude, sur la réalisation systématique du test de référence (le TPS), elle souligne l'hétérogénéité de l'inflammation bronchique dans l'AP.

5.2 Inflammation bronchique et sévérité de l'asthme

Il n'y a pas de lien évident démontré de cause à effet entre inflammation des voies aériennes et HRBNS. Il existe une corrélation entre inflammation bronchique et HRBNS, mais celle-ci est souvent faible, parfois absente.

Crimi et al ont mesuré l'HRBNS chez 71 patients ayant un asthme allergique chronique, ainsi que l'inflammation bronchique par l'analyse de l'EI ($n=28$) ou du LBA ($n=43$) et des biopsies bronchiques ($n=20$) (60). Il n'y avait pas de corrélation significative entre l'HRBNS et le nombre de cellules inflammatoires retrouvées sur les trois types de prélèvements, ce qui suggère que l'inflammation bronchique n'est pas le seul déterminant de l'HRBNS. De même, dans une étude comprenant 99 asthmatiques persistants à l'état stable, il n'y avait pas de corrélation significative entre l'HRBNS, la fonction respiratoire

(mesurée par le VEMS, la capacité vitale, la capacité vitale inspiratoire) et l'inflammation bronchique mesurée par l'EI (61).

Il existe cependant des arguments montrant que l'inflammation neutrophilique est associée plus fréquemment à des symptômes persistants ou à un asthme sévère. Dans l'étude de Gibson et al. 59% des 56 patients ayant un asthme persistant ont une inflammation neutrophilique mesurée par EI (62).

Ceci est conforté par l'étude de Jatakanon et al, qui montre que les neutrophiles sont significativement augmentés dans l'EI des asthmes sévères par rapport aux asthmes légers dans une population de 67 patients, ce qui suggère que l'inflammation neutrophilique aurait une valeur de mauvais pronostic (63).

En conclusion, la mesure de l'inflammation bronchique dans l'asthme permet de préciser les mécanismes physiopathologiques sous-jacents - ce qui peut avoir un intérêt thérapeutique - ou de révéler des pathologies sub-cliniques. L'inflammation bronchique représente donc une mesure complémentaire aux autres méthodes de l'évaluation de l'asthme telles que les symptômes cliniques, la spirométrie et l'HRBNS. Elle permettrait en clinique d'apporter des réponses sur l'évolutivité de la maladie, son mécanisme, et l'impact du traitement. de la même façon que l'on questionne un patient sur ses symptômes et que l'on mesure le TVO et l'HRBNS.

6. Méthodes d'investigation de l'inflammation bronchique

6.1 Méthodes invasives

L'évaluation de l'inflammation bronchique a été faite initialement par l'étude des prélèvements réalisés lors d'endoscopies bronchiques (lavage broncho-alvéolaire (LBA), lavage bronchique (LB), biopsies bronchiques (BB)). Ces méthodes ont permis, dans les années 1980, des avancées considérables dans la compréhension de la physiopathologie de l'asthme, et notamment du rôle de l'inflammation bronchique (6).

Cependant, le risque et l'inconfort de ces examens pour les patients, de même que leur coût en limitent clairement les indications en pratique clinique courante, bien que l'endoscopie bronchique soit encore la méthode d'exploration de référence pour l'inflammation bronchique.

Dans ce contexte, l'expectoration induite (EI) offre l'alternative d'une méthode d'investigation directe et non invasive de l'inflammation bronchique.

6.2 Méthodes non invasives

6.2.1 Monoxyde d'azote (NO) de l'air expiré

Le NO est un médiateur dont la production est augmentée par les cellules inflammatoires qui majorent l'expression de la NO synthétase inducible (iNOS). L'expression de l'iNOS est très augmentée dans l'épithélium bronchique des asthmatiques (64). Ainsi la mesure du NO de l'air expiré représente-t-elle un marqueur de l'inflammation bronchique dans l'asthme (65)

Peu d'études sur le rôle du NO expiré dans l'AP ont été réalisées.

Obata et al ont étudié le NO de l'air expiré chez deux groupes de patients ayant un TPS positif (répondeurs) et négatif (non répondeurs) à l'acide plicatique (66). Curieusement,

ils ont retrouvé une augmentation du NO expiré 24 heures après le TPS dans les deux groupes, mais significative uniquement chez les non répondeurs. Il y avait, par contre, une corrélation entre le degré de l'éosinophilie bronchique (mesuré par EI) et le taux de NO expiré avant et après TPS, mais pas de corrélation entre l'augmentation du NO expiré et les variations des paramètres fonctionnels.

Dans une autre étude réalisée par la même équipe, comportant 71 sujets ayant un AP au cèdre rouge, une corrélation significative entre éosinophilie bronchique (mesurée par EI) et taux de NO expiré a été mise en évidence. En revanche, il n'y avait pas de différence significative entre NO expiré chez les non exposés ($n = 50$) et chez les patients toujours exposés ($n = 21$) à l'acide plicatique (67).

A l'inverse dans une autre étude, le NO expiré 24 heures après TPS était modérément mais significativement augmenté chez 14 patients ayant un AP, et cette augmentation était plus marquée dans le sous-groupe de 7 patients qui avaient un taux de NO expiré bas avant TPS (< 14.5 ppb) et une réaction tardive (2 réactions prolongées immédiates, 2 tardives et 3 réactions doubles). De plus, aucune augmentation de NO expiré n'était observée chez les 36 patients ayant un TPS négatif, ni après les 42 tests avec placebo réalisés lors des jours contrôle (68).

De fait, il a été montré que la réaction asthmatique tardive induite par un allergène est associée à une production accrue du NO de l'air expiré (69).

Les résultats contradictoires de ces études impliquent la poursuite des recherches afin de déterminer la place que pourrait avoir la mesure du NO expiré dans la stratégie diagnostique de l'AP.

L'avantage de cette technique est son caractère totalement anodin, cependant les causes de variations du NO expiré sont multiples - tabac, corticoïdes, infections, irritants - ce qui en fait une méthode sensible mais peu spécifique, qui pourrait être proposée dans les programmes de surveillance au travail ou lors d'enquêtes épidémiologiques (70).

6.2.2 Expectoration induite (EI)

On sait depuis le XIXe siècle que la composition cellulaire des sécrétions bronchiques des asthmatiques est modifiée et comporte une augmentation des éosinophiles (Gollasch H. 1889; 7 : 361-365. cité dans 71). L'analyse des expectorations se heurtait toutefois à des difficultés techniques : difficulté pour obtenir une expectoration spontanée, difficulté pour comptabiliser et reconnaître les cellules dans le mucus essentiellement.

En 1958, Bickerman fut le premier (72) à décrire une méthode d'induction de l'expectoration pour le dépistage du cancer bronchique.

L'expectoration induite (EI) a connu un regain d'intérêt dans les années 80 pour établir de façon non invasive le diagnostic de pneumopathie à *Pneumocystis Carinii* chez les patients atteints de SIDA (73).

Mais l'intérêt de l'EI fut surtout relancé en 1992 par l'étude de Pin et al (74) qui validèrent une méthode d'induction de l'expectoration, leur permettant de comparer la cellularité des sécrétions bronchiques de 17 patients asthmatiques à celle de 17 patients sains. Cette étude, puis celle de Pizzichini et al (75) qui validèrent une méthode de traitement des EI (« processing »), furent à l'origine d'une utilisation de plus en plus fréquente de l'EI et de sa standardisation.

7. Description de la méthode de l'expectoration induite

7.1 Induction

L'induction de l'expectoration est provoquée par l'inhalation de sérum salé hypertonique à l'aide d'un appareil de nébulisation ultrasonique. On utilise des concentrations croissantes de sérum hypertonique (3, 4 puis 5%) pendant un temps fixe de 5 à 7 minutes et après chaque inhalation on demande au patient de tousser et de cracher après s'être rincé la bouche avec de l'eau. L'induction est précédée de la prise de 400 µg d'un bêta2 agoniste pour prévenir un bronchospasme, et le VEMS est mesuré avant et après chaque inhalation. L'inhalation est interrompue en cas de chute de 20% ou plus du VEMS. Si le VEMS à l'état de base est < 70% de la théorique, l'inhalation est débutée avec du sérum physiologique isotonique.

7.2 Traitement de l'échantillon d'expectoration induite

L'échantillon doit être examiné dans les 2 heures. Deux techniques ont été décrites: dans la première on sélectionne les parties les plus denses de l'expectorât de manière à réduire la contamination par les cellules squameuses salivaires; dans la deuxième, la globalité de l'expectoration est traitée. Dans les deux méthodes, l'échantillon obtenu est soumis à un agent mucolytique - le dithiothreitol - qui permet, en cassant les ponts disulfures, de disperser les cellules. La suspension est ensuite disposée dans un filtre retenant une partie

de la phase liquide mais permettant le passage des cellules. Un décompte des cellules non squameuses et une étude de la viabilité cellulaire sont alors effectués avec du bleu trypan dans un haemocytomètre. Après cytocentrifugation et coloration au May-Grunwald-Giemsa, on peut réaliser une numération-formule cellulaire. Le surnageant est recueilli et congelé (à moins 70 degré celsius) pour d'éventuels dosages ultérieurs de médiateurs de l'inflammation.

8. Comparaisons des méthodes : endoscopie versus expectoration induite

Pizzichini et al ont comparé l'inflammation bronchique mesurée par LBA et EI chez 11 patients ayant un asthme persistant léger à l'état stable (76). L'EI avait une cellularité plus importante et une plus forte proportion de neutrophiles, de lymphocytes T CD4+ CD19+ (analysés en cytométrie de flux), et moins de macrophages que le LBA. Il n'y avait pas de différence significative dans la proportion des éosinophiles, des lymphocytes et des cellules épithéliales entre les deux méthodes.

L'EI comporte donc plus de neutrophiles, le LBA plus de macrophages et les éosinophiles sont représentés de façon similaire dans les deux techniques, ce qui est conforté par les résultats d'autres études (77,78, 79, 80).

La corrélation entre les éosinophiles de l'EI et du LBA est variable, positive dans certaines études (78, 79) ou absente (76). Il existait par ailleurs une corrélation positive entre les neutrophiles de l'EI et du LBA dans l'étude de Pizzichini et al (76).

Enfin, il n'a pas été retrouvé de corrélation significative entre l'éosinophilie de l'EI et des biopsies bronchiques (78, 79), sauf dans la sous-population de patients en exacerbation d'asthme et ayant une bronchopathie chronique obstructive.

Ces variations peuvent en partie s'expliquer par le fait que ces examens explorent différentes parties de l'arbre bronchique, le LBA explorant l'inflammation périphérique, les biopsies bronchiques l'inflammation des parois bronchiques proximales, et l'EI l'inflammation bronchique proximale (76).

9. Signification de l'inflammation bronchique mesurée par l'expectoration induite

L'éosinophilie bronchique est associée à l'asthme de façon incontestable, mais son rôle dans la survenue des manifestations symptomatiques et des anomalies fonctionnelles est l'objet de controverses (cf chapitre 5.2.).

Dans une étude de 78 sujets asthmatiques atopiques, Louis et al ont pu mettre en évidence dans l'EI, un taux d'éosinophiles et d'ECP proportionnel à la sévérité de la maladie, selon les critères GINA (Global Initiative for Asthma). Ils ont cependant noté qu'il existe un chevauchement important des valeurs des éosinophiles de l'EI entre les différents groupes d'asthme, qui rend impossible d'assigner un degré de sévérité clinique à un taux d'éosinophiles (81).

D'autre part, nous avons vu qu'il n'existe pas de relation linéaire entre l'éosinophilie bronchique et l'HRBNS, dont les mécanismes sont multiples.

Néanmoins, l'éosinophilie bronchique de l'EI et la mesure de l'HRBNS semblent être les tests les plus valides pour le diagnostic de l'asthme, surpassant la mesure de la variation des DEP, le degré de réversibilité de l'obstruction bronchique à un bêta2 agoniste et le taux d'éosinophiles circulant (82).

L'éosinophilie bronchique serait également prédictive de la réponse aux corticostéroïdes inhalés dans l'asthme. positive en cas d'asthme éosinophilique, négative en cas d'asthme non éosinophilique (83). En revanche, d'autres études montrent qu'une amélioration clinique et fonctionnelle est présente même chez les asthmatiques qui n'ont pas d'inflammation éosinophilique (84). Chez les asthmatiques stabilisés par un traitement corticoïde inhalé, la persistance d'une éosinophilie dans l'EI serait un facteur prédictif d'une exacerbation lors de la diminution ou de l'arrêt des corticoïdes (85, 86).

Ces données semblent confirmées par une étude récente randomisée comparant 2 stratégies thérapeutiques pour la prescription des corticoïdes inhalés chez 74 patients asthmatiques modérés à sévères. La première prend en compte les critères retenus par la British Thoracic Society (BTS), à savoir: symptômes cliniques, variations du DEP et prise de bêta2 agonistes. La seconde prend en compte la symptomatologie clinique et le taux d'éosinophiles de l'EI (7). Comme on pouvait s'y attendre, les auteurs ont retrouvé (l'étude portant sur une période de 12 mois) une diminution du taux d'éosinophiles dans l'EI des patients pris en charge en fonction des résultats de l'EI. Mais également dans le même groupe, on notait une diminution significative du nombre d'exacerbations sévères et du nombre d'hospitalisations par rapport au groupe pris en charge en fonction des critères de la BTS. Les exacerbations sévères étaient définies soit par une chute du DEP matinal de plus de 30% de la valeur de base pendant 2 jours consécutifs

ou plus, soit par une détérioration des symptômes nécessitant la mise en route d'une corticothérapie orale. Ces données nécessitent d'être confortées par de nouvelles études, mais elles soulignent que même si le lien entre éosinophilie bronchique et exacerbation de l'asthme n'est pas toujours évident, celle-ci pourrait être un marqueur précoce de l'exacerbation - avant les signes cliniques et fonctionnels - dont la détection pourrait être pertinente en pratique clinique.

10. Expectoration induite dans l'asthme professionnel

L'exposition à des allergènes communs peut induire une inflammation éosinophilique chez les asthmatiques sensibilisés (87, 88); de la même façon, plusieurs études retrouvent une inflammation éosinophilique après exposition à des agents sensibilisants professionnels chez des patients ayant un AP.

Maestrelli et al ont retrouvé, chez 9 patients ayant un AP aux isocyanates, une inflammation bronchique à éosinophiles (mesurée par EI) significative après TPS. Par contre, la cellularité de l'EI n'était pas modifiée chez les 4 sujets contrôles (89).

Des résultats identiques ont été obtenus par Obata et al chez 17 sujets symptomatiques au travail. Les 9 patients ayant un TPS positif à l'acide plicatique (agent de l'asthme au cèdre rouge) avaient une éosinophilie dans l'EI significativement augmentée après TPS comparativement au groupe ayant un TPS négatif (66).

Dans certains cas, une neutrophilie associée à l'éosinophilie a été rapportée après exposition aux isocyanates par TPS (58, 90). Une inflammation neutrophilique a également été décrite après exposition professionnelle aux métaux (91).

Le mécanisme de l'inflammation bronchique est probablement différent selon le poids moléculaire de l'agent en cause, cependant, l'éosinophilie semble être une caractéristique aussi bien de l'exposition aux agents de bas pm que de haut pm (92).

Lemière et al ont également montré chez 10 patients ayant un AP qu'il y avait une augmentation significative de l'éosinophilie de l'EI après une période au travail, et que celle-ci disparaissait après une période hors travail, alors qu'il n'y avait pas de modification chez les 6 patients contrôles. Le diagnostic d'AP reposait sur des symptômes évocateurs, et une chute de 20% du VEMS au travail et/ou une majoration de l'HRBNS au travail (PC20 4 fois plus basse après la période au travail) (93).

Le type d'inflammation bronchique pourrait également dépendre du mode d'exposition à l'agent sensibilisant, qui est complètement différent par exemple entre une exposition au travail et une exposition au laboratoire lors d'un TPS.

L'exposition sur le lieu de travail a l'avantage de reproduire les conditions d'exposition "naturelle" à l'agent sensibilisant, lequel n'est d'ailleurs pas toujours facile à identifier, ce qui est un préalable indispensable au test en laboratoire. L'EI pratiquée après des périodes de travail et de repos permettrait ainsi d'évaluer l'inflammation bronchique des sujets suspects d'AP, de la même façon que les PEF au travail et hors travail détectent l'obstruction bronchique, et contribueraient à établir le diagnostic d'AP.

Présentation de l'article 1.

Le but de l'étude présentée ci-dessous était de déterminer la valeur diagnostique de l'EI chez des patients suspects d'AP, en comparaison avec le test de référence qui est le

TPS. Nous avons donc comparé dans une étude prospective les changements des comptes cellulaires de l'EI chez des patients suspects d'AP, après deux périodes au travail et hors travail. Nous avons également étudié la variation des DEP au cours des 2 périodes, ainsi que celle de l'HRBNS après chaque période, ce qui représente une exploration de routine de l'AP dans le service de pneumologie de l'Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal. Enfin chaque patient devait effectuer un TPS en laboratoire ou sur le lieu du travail, cet examen permettant de différencier les patients en deux populations, AP et asthme non professionnel.

Article 1: article accepté dans la revue American Journal of Respiratory and Critical Care medicine (Am J Respir Crit Care Med. 2004 Oct 15;170(8):845-50.).

**An effective strategy for diagnosing occupational asthma:
use of induced sputum**

Frédéric Girard MD¹, Simone Chaboillez RT¹, André Cartier MD¹, Johanne Côté MD²,
Frederick E Hargreave MD³, Manon Labrecque MD¹, Jean-Luc Malo MD¹,
Susan M Tarlo MB, BS⁴, Catherine Lemièr MD¹

1 Hôpital du Sacré-Coeur de Montréal (Qc) Canada

2. Hôpital Laval, Sainte Foy (Qc) Canada

3. St-Joseph's Healthcare, Hamilton (ON) Canada

4. Toronto Western Hospital, and Gage Occupational and Environmental Health unit,
Toronto (ON) Canada

Correspondence:

Dr. C. Lemièr
Department of Chest Medicine
Sacré-Coeur Hospital
5400 West Gouin
Montreal, Quebec, Canada, H4J 1C5
Tel: (514) 338 2796 Fax: (514) 338 3123
[REDACTED]

The study was funded by a grant from the Canadian Institutes of Health Research. MOP-42544.

Catherine Lemièr holds a scholarship from the Canadian Institutes of Health Research.

Running head: Diagnosing occupational asthma

Word count: 3500

Descriptor number : 114

This article has an online data supplement, which is accessible from this issue's table of content online at www.atsjournals.org

Abstract

Monitoring airway inflammation by means of induced sputum cell counts seems to improve the management of asthma. We sought to assess whether such monitoring at the end of periods at and away from work combined with the monitoring of peak expiratory flow (PEF) could improve the diagnosis of occupational asthma. We enrolled subjects suspected of having occupational asthma. Serial monitoring of PEF was performed during 2 weeks at and away from work. At the end of each period, induced sputum was collected. Specific inhalation challenge was subsequently performed. PEF graphs were interpreted visually by five independent observers. Forty-nine subjects, including 23 with positive specific inhalation challenge, completed the study. The addition of sputum cell counts to the monitoring of PEF increased the specificity of this test respectively by 18% (range 13.7-25.5) or 26.8% (24.8-30.4) depending if an increase of sputum eosinophils greater than 1 or 2% when at work was considered as significant. The sensitivity increased by 8.2% (4.1-13.4) or decreased by 12.3% (3.1-24.1) depending on the cut-off in sputum eosinophils chosen (greater than 1 or 2% respectively). The addition of sputum cell counts to PEF monitoring is useful to improve the diagnostic of occupational asthma.

Word count: 198

Key words: occupational asthma, specific inhalation challenge, peak expiratory flow, induced sputum, eosinophils.

Introduction

Occupational asthma (OA) is defined as “a disease characterized by variable airflow limitation and/or airway hyperresponsiveness due to causes and conditions attributable to a particular occupational environment and not to stimuli encountered outside the workplace.”

(1). It is often difficult to distinguish it from preexisting asthma worsened by the workplace. The diagnosis of OA can be difficult to confirm objectively. The current gold standard method is to perform a specific inhalation challenge (SIC)(2) with the suspected agent, but this test is expensive and time-consuming, and it is available in only a few specialized centres worldwide. The alternative method is by serial peak expiratory flow (PEF) monitoring during periods at work and away from work(2-4). Unfortunately, PEF can be difficult to interpret, does not have optimal sensitivity and specificity and has a number of pitfalls such as low compliance, potential falsification of results and underestimation of changes in airway calibre (5). Adding serial measures of airway responsiveness to methacholine or histamine has also been advocated to document work-related changes (6).

The introduction of another measurement to the monitoring of PEF might improve the diagnostic validity. One such measurement is that of induced sputum cell counts (7). These have shown that sputum eosinophils increase during periods at work and resolve after periods away from work only in subjects with OA (8). Sputum eosinophils have also been shown to increase after positive specific inhalation challenges (9;10). Therefore, we hypothesize that the analysis of induced sputum cell counts may facilitate the investigation of OA. We undertook a multicentre prospective study to assess whether adding sputum cell

counts at the end of periods at work and away from work to serial monitoring of PEF and airway responsiveness could improve the diagnostic validity of OA.

Some of the results of this study had previously been reported in the form of abstracts (11;12).

Methods

The methods and analysis of the data are described in further details in the online supplement (cf annexe).

Subjects

The study included subjects older than 18 years who had been referred to four Canadian OA reference centres for possible OA.

Concurrent treatment with inhaled corticosteroids (ICS) and long-acting β_2 -agonists was kept the same during the investigation, but long-acting β_2 -agonists were stopped 72 hours prior to methacholine challenge and SIC. Short-acting inhaled β_2 -agonist was used only when needed. Subjects exposed to seasonal common inhalants to which they were sensitized during the study period and, subjects who have had an upper or lower respiratory infection within the four weeks prior to the first visit were not enrolled.

The study was approved by the research ethics committee of each participating centre. All subjects gave their written consent.

Study design

The study was of prospective crossover design with periods of two weeks at work and two weeks away from work. The subjects were seen within 48 hours after the end of each period or whenever there was an exacerbation of symptoms. On the first occasion, subjects' characteristics were documented. On all occasions, respiratory symptoms were scored according to a Borg scale from 0 (no symptoms) to 10 (worst symptoms ever)(13). Daily use of short-acting β_2 -agonists were also recorded, and spirometry, methacholine challenge and sputum induction were performed. Peak expiratory flow was monitored serially during a two-week period at work and a two-week period away from work. Specific inhalation challenge in the laboratory or at the workplace was subsequently performed to confirm the diagnosis of OA and was considered the gold standard for the diagnosis.

Procedures

Spirometry was performed according to American Thoracic Society standards (14). Methacholine challenge tests were performed as previously described (15). In our center, a change in PC_{20} between two values is considered as significant when there is at least a 3.2 fold difference between the measurements. This corresponds to the limit of reproducibility of the test in our laboratory (16). However, the experts who interpreted the methacholine challenge tests did not receive any specific guidance for the interpretation of changes in PC_{20} in order to reproduce their clinical practice where they do not necessarily follow rigid rules. Sputum was induced using inhalations of increasing concentrations (3, 4 and 5%) of hypertonic saline (17), was selected from the expectorate, and was processed and examined

for non-squamous cell counts as previously described.(7). The changes in sputum eosinophil counts between periods at and away from work achieving the best sensitivity and specificity compared to SIC were first identified by using a ROC curve. There is a high repeatability between sputum eosinophil counts performed on two occasions in asthmatics (intraclass correlation coefficient from 0.85 (18) to 0.94 (7)). Furthermore in a previous study in which we studied asthmatic subjects without OA in stable conditions on two separate occasions before and after exposure to occupational agents (19), the median change in sputum eosinophils was 0.15% (IQR 1.7). In this same study, a change in sputum eosinophils greater than 2% was associated with a positive SIC. Therefore, although no specific cut-off has been defined to consider a change in sputum eosinophil count as being clinically significant, a change greater than 2% in sputum eosinophils is likely to exceed the spontaneous variability of the test in asthmatic subjects. We considered the sensitivity and specificity of various changes in sputum eosinophil counts within subjects between periods at work and away from work. Skin-prick tests were performed with 12 common inhalants (20). A subject was considered to be atopic if at least one test was positive. Specific inhalation challenges were performed as previously described (21).

PEF monitoring

The subjects were asked to blow into a Mini-Wright peak flow meter, and to record the values in a diary (22). PEF graphs were drawn and were interpreted using direct visual analysis by five observers in a double-blind fashion as previously described (3). The observers did not receive any guidance to interpret PEF graphs. They were asked to interpret the graphs as they would do it in their clinical practice. We also employed a

computerized approach, using the software Oasys-2 to analyze PEF monitoring (23). PEF monitoring was considered to be suggestive of OA if the score produced by applying Oasys-2 to PEF was greater or equal to 2.51 as previously suggested (23).

Data analysis

Paired-t-test and Wilcoxon rank test were used to compare the changes between periods at work and away from work in respectively normally and non-normally distributed data.

Randomized PEF graphs both including and excluding PC₂₀ values after periods at and away from work were analyzed visually by five independent experts blinded to the results of the SIC. They estimated the probability of OA for each subject by indicating Yes, No, or Doubtful. Sensitivity and specificity were assessed for changes in sputum eosinophil counts, interpretation of PEF graphs and combination of both.

Results

We assessed ninety-four subjects who had been referred for possible OA and were potentially eligible for the study. Forty-five subjects were excluded because of non-production of sputum (n = 7), inability to complete one of two periods off work and away from work (n = 18), inability to perform SIC (n = 9), occurrence of an exacerbation of their asthma related to other allergenic exposure or change in the asthma medication during the investigation (n=7), or protocol violation (n = 4). Forty-nine subjects completed the study

(Table I); however, one of them did not produce an adequate sputum sample and three subjects did not have interpretable PEF.

We did not find any significant differences between the baseline characteristics of the subjects included and excluded from the study in terms of age ($p = 0.9$), sex ($p = 0.6$), atopic status ($p = 0.5$), smoking habits ($p = 0.3$), type of agents to which they were exposed (high molecular weight agents vs low molecular weight agents) ($p = 0.2$), total duration of exposure to the occupational agent ($p = 0.9$), medication ($p = 0.1$), and FEV₁ when away from work ($p = 0.6$). However, the subjects who did not complete the investigation showed a higher PC₂₀ when away from work (11.2 (95% CI 4.8-25.7) mg/ml) than the subjects who completed the study (4.25(95% CI 2.5-7.2) mg/ml) ($p = 0.05$). The characteristics of the subjects included and excluded could not be compared when at work due to the numerous missing variables in the group who did not complete the investigation.

Forty-five subjects completed all the steps of the study. Twenty-three had a positive inhalation challenge. Immediate ($n = 13$), late ($n = 8$), dual ($n=1$) and immediate prolonged ($n = 1$) asthmatic reactions were encountered. Twenty-six patients had a negative SIC. There were no differences in the baseline characteristics between the two groups, nor in the type of sensitizers to which the subjects were exposed.

Comparison of the clinical and functional changes between periods at work and away from work between subjects with positive and negative SIC

There was a similar and significant decrease in the symptom score and in the use of short-acting β_2 -agonists during periods away from work compared with periods at work in both

groups (Table II). There was a similar slight but significant improvement in FEV₁ and PC₂₀ during periods away from work compared with periods at work in both groups.

Comparison of the inflammatory changes between periods at work and away from work between subjects with positive and negative SIC

Only in the group with positive SIC did the median percentage of sputum eosinophils significantly increased after periods at work compared with periods away from work ($p = 0.002$) (Table II). Among the 26 subjects who had a negative challenge, only six subjects (24%) had an increase in their eosinophil count greater than 1% when at work compared with periods away from work, whereas 15 (65%) out of 23 had such an increase in the group with positive SIC. Only 4 subjects (2 in the group with positive SIC and 2 in the group with negative SIC) had a decrease in their sputum eosinophil count greater than 1% when at work compared to periods away from work (Figure 1).

The increase in sputum eosinophils observed during periods at work among the subjects with positive SIC was greater in the five subjects who were not being treated with inhaled corticosteroids (median sputum eosinophils 4.2 (Interquartile range (IQR): 15.7) %) than in the 17 subjects who were (1.2 (IQR:5.5) %) ($p = 0.04$). It was only in the group with negative SIC that the median percentage of sputum neutrophils increased after periods at work compared with the period away from work ($p = 0.003$).

ROC curves

Using ROC curves, we identified that an increase in sputum eosinophils greater than 1% during periods at work compared with periods away from work achieved the most satisfying sensitivity 65.2%(95% CI 44.8-81.2) and specificity (76.0%(95% CI 56.6-88.5) for predicting a positive SIC (Figure 2). We also considered alternative cut-offs since the magnitude of the changes in sputum eosinophils that can be considered as clinically significant is likely to be greater than 2%. An increase in sputum eosinophils of 2% when at work achieved a 52% (95%CI 33.0-70.7) sensitivity and a 80% (95%CI 60.9-91.1) specificity. An increase of 6.4 % percent in sputum eosinophils when at work was identified by the ROC curve to have a high specificity - 92.0%(95% CI 75.0-97.8) -with a low sensitivity 26.1%(95% CI 12.6-46.5).

PEF monitoring and sputum cell count analysis

The analysis of PEF monitoring by the computerized approach Oasys 2 achieved a sensitivity of 34.8% (95%CI 18.8-55.1) and a specificity of 65.2% (95%CI 44.9-81.2).The addition of sputum cell counts (considering an increase in sputum eosinophils greater than 1% or 2% as clinically significant) to the PEF monitoring improved the sensitivity to 50% (95%CI 23.6-76.3)% or 36.4% (95%CI 15.2-64.6) respectively and the specificity to 75% (95%CI 50.5-89.8) or 80% (95% CI 54.8 –93.0) respectively. In 21 and 22 cases respectively, there was a discordance between the results of the two tests.

We examined the visual analyses of the PEF monitoring including or excluding the PC₂₀ values by the five experts (Table III). The agreement between the PEF interpretation of the different experts (Yes, No Doubtful) was moderate (Cohen's Kappa varied between 0.4 and

0.6, $p < 0.01$). When adding the results of sputum cell counts with an increase in sputum eosinophils greater than 1% considered as clinically significant, to the interpretation of PEF monitoring alone or to the combination of PEF and PC₂₀ monitoring, the sensitivity of these tests increased by respectively 8.2% (range 4.1 -13.4) and 7.9% (4.1-11.4), and the specificity increased of respectively by 18% (13.7-25.5) and 27.4% (18.1-38.2) among the experts. The results of the PEF monitoring and PEF/PC₂₀ monitoring and sputum cell count results were not in accordance in an average of 13.4 and 12.6 cases, respectively. When considering an increase in sputum eosinophils greater than 2% when at work as significant, the sensitivity of the combination PEF/sputum and PEF/PC₂₀/sputum decreased by 12.3% (range 3.1-24.1) and 14.6% (5.3-32.0) respectively and the specificity increased by 26.8% (range 24.8- 30.4) and 30.6% (range 19.4-45.5) compared with PEF monitoring alone or with the combination of PEF and PC₂₀ respectively. The results of the PEF, PEF/PC₂₀ monitoring and sputum cell count results were not in accordance in an average of 15.0 and 11.2 cases, respectively. The combination of sputum cell counts with PEF or PEF/PC₂₀ monitoring with an increase in sputum eosinophils greater than 6.4% considered as significant increased further the specificity but lowered the sensitivity compared with PEF or PEF/PC₂₀ monitoring alone (Data not shown).

Discussion

This study has shown that most workers with positive SIC had higher sputum eosinophil counts when at work that decreased when they were removed from work, whereas most subjects with negative SIC did not show such changes in their sputum eosinophil counts.

Also, the addition of the analysis of induced sputum cell counts to the monitoring of PEF and PC₂₀ during periods at and away from work improved the specificity of these tests compared with SIC.

Interestingly, we found that subjects who had a negative SIC had more sputum neutrophils when at work, a finding that has not been described before to the best of our knowledge. Mechanisms of this neutrophilic inflammation are unclear, but it may be due to an irritant effect of agents in the workplace, as happens with many stimuli such as repeated inhalation of hypertonic saline (24) or atmospheric pollutants such as ozone (25). Exposure to swine confinement (26), or grain dust (27) also induces a neutrophilic inflammation. Some occupational agents may also induce asthma-like symptoms and neutrophilic inflammation through the same mechanism. For those subjects who experience increased symptoms of asthma combined with a neutrophilic type of inflammation, the long-term consequences of remaining in the workplace are unknown and need to be evaluated.

The sensitivity and specificity of PEF monitoring interpreted with the Oasys-2 software were lower than in a previous study (23). In this study, the interpretation of PEF monitoring by Oasys-2 was compared to several diagnostic methods independent of PEF investigation such as specific inhalation challenge, changes in PC₂₀ at work and away from work and positive IgE with a suggestive history of OA. In the present study, we used a unique reference test: specific inhalation challenge which could explain at least partly this discrepancy. Nevertheless, the sensitivity and specificity of serial PEF monitoring interpreted visually in our study were also lower than those reported in previous studies (3;4). In those studies, the sensitivity and specificity of PEF monitoring was estimated by

pooling the interpretation of several experts (3) and by considering the diagnosis of OA when there was an agreement between the majority (4) or all (3) of the readers. However, such an analysis does not reflect clinical practice where a single physician has to make a diagnosis and tends to overestimate the sensitivity and the specificity of the test.

The previous studies that evaluated the sensitivity and specificity of PEF compared with SIC were performed in the early nineties. It is possible that at this time a minority of subjects were treated with inhaled corticosteroids. By contrast, the majority of our subjects were taking this medication. This most likely influenced the intensity of sputum eosinophilia, which was lower than expected (8), as well as the PEF variability observed during periods at work. Indeed, the subjects who were not taking inhaled corticosteroids had a greater increase in sputum eosinophilia at work than those who were treated with this medication. This is consistent with previous studies showing that inhaled steroids reduces significantly sputum eosinophilia (28;29) at baseline and after allergen challenge (30;31). Indeed, a single dose of inhaled steroids can decrease sputum eosinophilia by 25% of the baseline value (32). Hence, when a patient is away from work and has clinically improved, consideration should be given to withdrawing corticosteroid treatment and following the response over two to four weeks before returning him/her to work. Eleven subjects were also taking long-acting β_2 -agonists during the investigation. This treatment is also likely to have had a suppressive effect on the PEF variability. When it is possible to achieve an adequate asthma control without this medication, the PEF interpretation is likely to be easier if the patient is switched to short-acting β_2 -agonists during the period of investigation.

It is likely that the enrolment of patients without inhaled steroids or long-acting β_2 -agonists would have maximized the changes observed in sputum and PEF monitoring between periods at work and away from work. However, the results of such a study would not have been applicable to clinical practices, where the majority of patients are taking these medications and cannot be weaned without impairing their asthma control. The strength of our study is that it was performed in real-life conditions. Hence, its results can be applied to other clinical settings.

The evaluation of any diagnostic tool has to be done in comparison with a gold standard. We compared the results of PEF monitoring and sputum induction with those of SIC. Although SIC tests are reliable, they can be falsely negative when they are performed with the wrong agent or when the subjects have been away from exposure for a long period (33). Therefore, it is possible that some patients were misdiagnosed in our study. Indeed, at least two subjects with negative SIC had a high increase in sputum eosinophil counts when at work in addition to suggestive PEF and PC_{20} monitoring, suggesting that the SIC were falsely negative.

The analysis of sputum cell counts may be used only after the first steps of OA investigation – the clinical history, performance of relevant skin-prick tests and measurement of airway responsiveness – have been completed (34).

The use of this strategy has a number of limitations, as do other assessments based on serial PEF and PC_{20} monitoring (5). Indeed, it cannot be performed in a fair number of patients in real life as shown by the large number of subjects who had to be excluded from our study. Any exposure to a common allergen to which the subjects is sensitized, the occurrence of a respiratory infection or the modification of treatment during the period of investigation

precludes a reliable interpretation of the data. The inability to return to the workplace or to be removed from the workplace during the investigation prevents the assessment. Moreover, some subjects may be too sick for specific challenge testing while others do not follow instructions for PEF monitoring. In the present study, sputum production and examination was successful in all but 7.5% of attempts, which is consistent with previous data (35). However, while the analysis of induced sputum is becoming more and more common, it is not yet widely available.

In this study, we found that changes greater than 1% in sputum eosinophils between periods at work and away from work gave the best compromise between specificity and sensitivity and increased both the sensitivity and specificity when added to the PEF and PC₂₀ monitoring. However, this change in sputum eosinophils is minimal and may not be clinically significant. Considering an increase in sputum eosinophil count greater than 2% when at work in addition to the PEF monitoring will improve the specificity of the test, but not its sensitivity. Clinically significant changes in sputum eosinophils between periods at work and away from work need to be defined to facilitate the future interpretation of this test in the investigation of OA.

In conclusion, the analysis of induced sputum cell counts during periods at work and away from work is a valuable tool, which, when added to investigation by PEF monitoring, improves the specificity of this test compared to specific inhalation challenges. When the monitoring of PEF, and sputum cell counts are both highly suggestive of OA, it may constitute an alternative to the performance of SIC unless the etiological agent needs to be identified. Alternatively, when there is discordance between the monitoring of PEF, PC₂₀ and sputum cell counts, the investigation may be pursued by performing specific inhalation

challenges or by returning the patient to the workplace, with a reduction of the medication if possible, to perform PEF, PC₂₀ and sputum cell count monitoring at work and away from work.

Acknowledgments:

We thank the patients who participated to the study, Mary Speck and Rashid Beck for technical assistance and Lori Schubert for reviewing the manuscript.

References

1. Definition and Classification of Asthma. In: Bernstein IL, Chan-Yeung M, Malo JL, Bernstein DI, editors. Asthma in the Workplace. 2nd ed. New-York: Marcel Dekker; 1999. p. 1-3.
2. Tarlo SM, Boulet LP, Cockcroft DW, Côté J, Hargreave FE, Holness L et al. Directives de la Société canadienne de thoracologie pour l'asthme professionnel
canadian thoracic society guidelines for occupational asthma. Can Respir J 1998;5:397-410.
3. Perrin B, Lagier F, L'Archevêque J, Cartier A, Boulet L, Côté J et al. Occupational asthma: validity of monitoring of peak expiratory flow rates and non-allergic bronchial responsiveness as compared to specific inhalation challenge. Eur Respir J 1992;5:40-8.
4. Côté J, Kennedy S, Chan-Yeung M. Sensitivity and specificity of PC 20 and peak expiratory flow rate in cedar asthma. J Allergy Clin Immunol 1990;85:592-8.
5. Moscato G, Godnic-Cvar J, Maestrelli P, Malo J, Burge P, Coifman R. Statement on self-monitoring of peak expiratory flows in the investigation of occupational asthma. J Allergy Clin Immunol 1995;96:295-301.

6. Chan-Yeung M, Malo JL, Tarlo SM, Bernstein L, Gautrin D, Mapp C et al.
Proceedings of the first Jack Pepys Occupational Asthma Symposium.
Am.J.Respir.Crit Care Med. 2003;167(3):450-71.
7. Pizzichini E, Pizzichini M, Efthimiadis A, Evans S, Morris M, Squillace D et al.
Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of
cell and fluid-phase measurements. Am J Respir Crit Care Med 1996;154:308-17.
8. Lemiere C, Pizzichini MM, Balkissoon R, Clelland L, Efthimiadis A,
O'Shaughnessy D et al. Diagnosing occupational asthma: use of induced sputum.
Eur.Respir.J. 1999;13(3):482-8.
9. Obata H, Dittrick M, Chan H, Chan-Yeung M. Sputum eosinophils and exhaled
nitric oxide during late asthmatic reaction in patients with western red cedar
asthma. Eur Respir J 1999;13:489-95.
10. Lemiere C, Chaboillez S, Malo JL, Cartier A. Changes in sputum cell counts after
exposure to occupational agents: What do they mean? J Allergy Clin Immunol
2001;107(6):1063-8.
11. Girard, F., Côté, J., Boulet, L. P, Tarlo, S., Hargreave, F. E., and Lemiere. Role of
Induced Sputum in the Investigation of Occupational Asthma. Am J Respir Crit
Care Med 197, A685. 2003.

12. Lemiere, C., Girard F, Chaboillez S, Cartier A, Côté, J., Hargreave, F. E., Malo JL, and Tarlo SM. An effective strategy for diagnosing occupational asthma : use of induced sputum. *Am J Respir Crit Care Med* 169, A459. 2004.
13. Borg GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci.Sports Exerc.* 1982;14(5):377-81.
14. American Thoracic Society. Standardization of spirometry. 1994 update. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:1107-36.
15. Juniper EF, Cockcroft DW, Hargreave FE. Histamine and methacholine inhalation test: a laboratory tidal breathing protocol. *Astra Draco , Lund Swede* 1994;2nd. ed.
16. Dehaut P, Rachiele A, Martin R, Malo J. Histamine dose-response curves in asthma: reproducibility and sensitivity of different indices to assess response. *Thorax* 1983;38:516-22.
17. Pin I, Gibson P, Kolendowicz F, Girgis-Gabardo A, Denburg J, Hargreave F et al. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax* 1992;47:25-9.
18. in't, Veen JC, de Gouw HW, Smits HH, Sont, J. K., Hiemstra PS, Sterk PJ, and Bel EH. Repeatability of cellular and soluble markers of inflammation in induced sputum from patients with asthma. *Eur Respir J* 9, 2441-2447. 1996.

19. Lemiere C, Chaboillez S, Malo JL, Cartier A. Changes in sputum cell counts after exposure to occupational agents: What do they mean? *J Allergy Clin Immunol* 2001;107(6):1063-8.
20. Perrin L, Dechamp C, Deviller P, Joly P. Reproducibility of skin tests. A comparative study of the Pepys prick test and the Morrow-Brown needle and their correlation with the serum IgE level. *Clin Allergy* 1984;14:581-8.
21. Cartier A. Definition and diagnosis of occupational asthma. *Eur Respir J* 1994;7:153-60.
22. Burge P, O'Brien I, Harries M. Peak flow rate records in the diagnosis of occupational asthma due to colophony. *Thorax* 1979;34:308-16.
23. Gannon P, Newton D, Belcher J, Pantin C, Burge P. Development of OASYS-2: a system for the analysis of serial measurement of peak expiratory flow in workers with suspected occupational asthma. *Thorax* 1996;51:484-9.
24. Nightingale JA, Rogers DF, Barnes PJ. Effect of repeated sputum induction on cell counts in normal volunteers. *Thorax* 1998;53(2):87-90.
25. Nightingale JA, Rogers DF, Barnes PJ. Effect of inhaled ozone on exhaled nitric oxide, pulmonary function, and induced sputum in normal and asthmatic subjects. *Thorax* 1999;54(12):1061-9.

26. Larsson BM, Larsson K, Malmberg P, Palmberg L. Airways inflammation after exposure in a swine confinement building during cleaning procedure. *Am J Ind.Med* 2002;41(4):250-8.
27. Park HS, Suh JH, Kim SS, Kwon OJ. Grain dust induces IL-8 production from bronchial epithelial cells: effect on neutrophil recruitment. *Ann.Allergy Asthma Immunol.* 2000;84(6):623-7.
28. Lim S, Jatakanon A, John M, Gilbey T, O'Connor BJ, Chung KF et al. Effect of inhaled budesonide on lung function and airway inflammation. Assessment by various inflammatory markers in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159(1):22-30.
29. Jatakanon A, Lim S, Chung KF, Barnes PJ. An inhaled steroid improves markers of airway inflammation in patients with mild asthma. *Eur Respir J* 1998;12(5):1084-8.
30. Gauvreau G, Doctor J, Watson R, Jordana M, O'Byrne P. Effects of inhaled budesonide on allergen-induced airway responses and airway inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:1267-71.
31. Gauvreau GM, Sulakvelidze I, Watson RM, Inman MD, Rerecich TJ, O'Byrne PM. Effects of once daily dosing with inhaled budesonide on airway hyperresponsiveness and airway inflammation following repeated low-dose allergen challenge in atopic asthmatics. *Clin.Exp.Allergy* 2000;30(9):1235-43.

32. Gibson PG, Saltos N, Fakes K. Acute anti-inflammatory effects of inhaled budesonide in asthma: a randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163(1):32-6.
33. Tarlo SM. Laboratory challenge testing for occupational asthma. *J Allergy Clin.Immunol.* 2003;111(4):692-4.
34. Chan-Yeung M, Malo J. Occupational asthma. *N Engl J Med* 1995;333:107-12.
35. Spanevello A, Confalonieri M, Sulotto F, Romano F, Balzano G, Migliori GB et al. Induced sputum cellularity. Reference values and distribution in normal volunteers. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1172-4.

Figures Legend

Figure 1. Changes in sputum eosinophils at work and away from work in subjects with positive and negative specific inhalation challenges.

Legend to Figure 1 SIC: Specific Inhalation Challenge

Figure 2: ROC curve built to determine the most relevant difference in sputum eosinophil percentage between periods at work and away from work for predicting the positivity of SIC.

Table I: Baseline characteristics of subjects with negative or positive specific inhalation challenges (SIC).

	Negative SIC, n = 26	Positive SIC, n = 23
Age, y	40.2 ± 11.9	40.6 ± 11
Sex M/F	12/14	18/5
Atopy	17A	19A
Smoking (S/exS/NS)	5/12/9	7/11/5
Pack-year	9.6 ± 15.1	13.4 ± 12.8
Agent (HMW/LMW/U)	3/13/10	7/11/6
	flour (2), latex (1), isocyanates (6), metals (2), glutaraldehyde (1), form-aldehyde (1), wood (1) triethanolamine (1) persulfate (1)	flour (4), liquorice (1), protease (n = 1), cat (1) isocyanates (= 8), red cedar (1), heated polyethylene (1), chloramine (1)
Total duration of exposure, years	9.2 ± 8.9	13.8 ± 12.2
Asthma duration, y	7.5 ± 10.6	5.2 ± 7.2
Number of subjects treated with ICS	14 (53.8%)	18 (78.3%)
Number of subjects treated with LABA	6(23.1%)	5(21.7%)
Period off work, days	16.1 ± 5.5	15.5 ± 3.5
Period at work, days	20.3 ± 16	16.8 ± 8.4

Legend to Table I. ICS Inhaled corticosteroids, LABA long-acting beta₂ agonists; A : atopy
S current smoker, exS exsmoker, NS non smoker, HMW: high molecular weight, LMW :
low molecular weight, U: unknown agent. No specific agent could be identified with
certainty when the specific challenges were performed at the workplace. However, in the
group with negative SIC, the subjects who underwent SIC at their workplace were exposed
to flour (1), metals (1), poultry (1), wood dusts (3) tobacco (1) pork (1), formaldehyde (1)
and cereals (1) whereas in the groups with positive challenges they were exposed to
tobacco (1), flour (1), resins (1), plastic (1) and pork (1).

Table II: Changes in clinical, functional and sputum cellularity before and after the at work/off work periods in subjects with negative and positive SIC.

	Negative SIC (n = 26)		Positive SIC (n = 23)	
	Off work	At work	Off work	At work
Symptoms score	4.6 ± 5.6	14.7 ± 9.8 *	4.5 ± 4.6	18.0 ± 12 *
β₂ agonist use (puff/day)	0.4 ± 0.7	1.2 ± 1.6 *	0.3 ± 0.6	1.8 ± 1.9*
FEV₁, % pred	88.2 ± 16.9	82.4 ± 20.6 †	90.8 ± 17.2	84.6 ± 22.3†
PC₂₀, mg/ml	6.0 ± 5.2	3.5 ± 3.0†	2.9 ± 2.3	1.6 ± 1.2†
TCC, 10⁶/ml	1.8 (2.4)	2.3 (2.7)	1.8 (4.3)	2.5 (4.3)
Neutrophils, %	37.7 (32.3)	59.5 (41.6) *	35.3 (43.0)	33.2 (41.2)
Eosinophils, %	0.8 (1.5)	1.0 (3.6)	0.5 (3.0)	2.8 (9.1) *

Legend TCC : total cell count; * p ≤ 0.01; † p ≤ 0.05.

Table III Sensitivities and specificities of PEF monitoring with and without the addition of sputum cell counts according to the different experts

	Expert 1	Expert 2	Expert 3	Expert 4	Expert 5
PEF					
Sensitivity	63.1%	78.9%	82.3%	77.7%	86.6%
Specificity	61.9%	52.9%	55.0%	47.6%	50.0%
Doubtful cases	6	10	9	7	17
PEF-Sputum1 /PEF-Sputum2					
Sensitivity	72.7% /60.0%	83.8/71.4%	90.9/66.6%	81.8%/66.6%	100.0%/62.5%
Specificity	81.8%/92.3%	66.6/%77.7%	69.2%/80.0%	72.7%/75.0%	66.0%/76.4%
Discrepancy between PEF and sputum	17/17	11/13	12/15	16/18	11/12
PEF/ PC₂₀					
Sensitivity	65.2%	60.0%	87.5%	72.2%	63.1%
Specificity	61.9%	36.8%	44.4%	47.6%	42.8%
Doubtful cases	2	7	11	7	13
PEF-PC₂₀-Sputum1 /PEF-PC₂₀-Sputum2					
Sensitivity	71.4%/52.9%	71.4%/52.6%	91.6%/55.5%	81.8%/56.2%	71.4%/57.8%
Specificity	80.0/81.3%	75.0/%82.3%	75.0%/76.4%	69.2%/71.4%	71.4%/75.0%
Discrepancy between PEF/PC ₂₀ and sputum	16/12	12/9	10/11	14/15	11/9

Legend The sensitivity and specificity for the combination of PEF and sputum or PEF-PC₂₀ and sputum were calculated with a difference greater than 1% (sputum1) and 2% (sputum 2) in sputum eosinophil counts between periods at work and away from work.

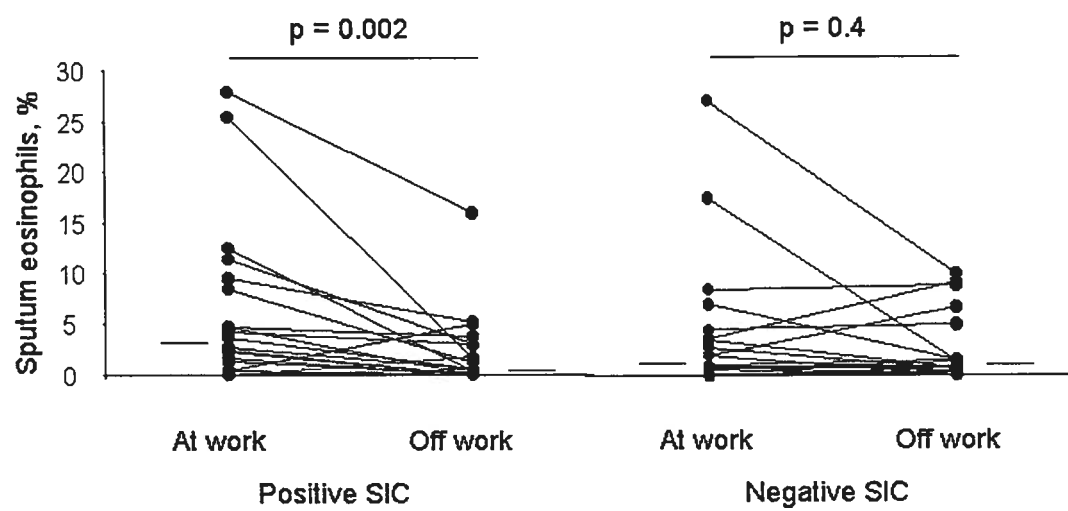


Figure1

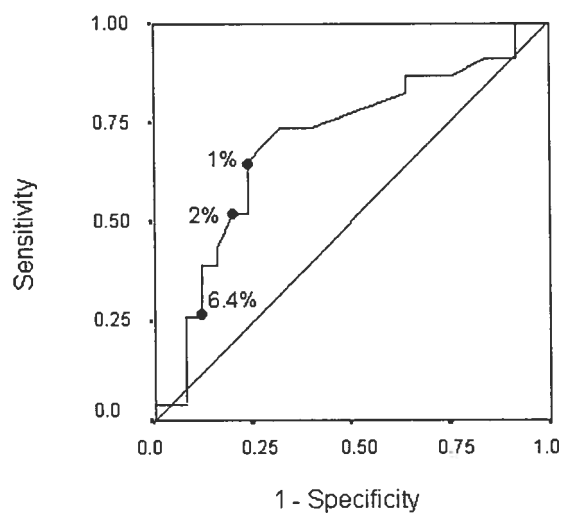


Figure 2

Commentaires sur l'article 1

Plusieurs points dans cette étude confortent l'hypothèse que l'EI pourrait être un outil diagnostique important dans l'AP.

a/ Il existe, chez les patients ayant un AP, une augmentation de l'éosinophilie bronchique après les périodes de travail qui disparaît ou diminue pendant les périodes de repos.

Cependant, l'intensité de l'éosinophilie est moindre que celle constatée dans une étude précédente (93). L'atténuation de l'éosinophilie bronchique au travail, chez les patients ayant un AP, pourrait être une conséquence de la corticothérapie inhalée, puisque les 5/23 patients avec TPS positifs n'ayant pas ce traitement avaient une augmentation des éosinophiles au travail significativement plus importante que les autres.

Et au final, la variation positive de 1% des éosinophiles bronchiques après une période d'exposition, proposée dans l'étude comme valeur seuil, est faible, et pourrait simplement représenter une variation intra-individuelle. C'est pourquoi une deuxième valeur seuil plus élevée - 2% - est proposée dans l'article 1, compte tenu du fait qu'une variation positive de 2% de l'éosinophilie bronchique après exposition était associée à la positivité du TPS dans une étude précédente (94).

Cette variation intra-individuelle de l'éosinophilie bronchique est mise en évidence dans une étude concernant 11 asthmatiques persistants légers: les auteurs retrouvent une augmentation significative de l'éosinophilie bronchique matinale en comparaison avec une mesure l'après-midi le même jour (mesurée par EI, exprimée en valeur absolue des

éosinophiles/mm³), corrélée à la réversibilité de l'obstruction bronchique après bêta 2 agonistes (95). La variation intra individuelle de l'éosinophilie bronchique semble toutefois minime, car elle n'est significative que si l'on regarde la valeur absolue des éosinophiles/mm³, mais pas en terme de pourcentage des éosinophiles. Or, l'éosinophilie bronchique est habituellement exprimée en pourcentage des éosinophiles. En effet, l'expression de l'éosinophilie en valeur absolue est fonction du compte cellulaire total, qui n'est pas une mesure reproductible (75).

Par ailleurs, les EI dans cette étude étaient effectuées au cours d'une même journée à des heures différentes, donc dans des conditions très différentes de notre étude, ce qui rend difficile la comparaison des résultats.

A l'inverse, Pizzichini et al ont étudié l'EI de sujets sains (n = 10), de patients asthmatiques stables (n = 19) et de fumeurs sans bronchopathie obstructive (n = 10), sur deux prélèvements différents réalisés à la même heure de la journée à 6 jours d'intervalle, et ils n'ont observé aucune variation significative du pourcentage d'éosinophiles (75).

Seule une étude comportant un grand nombre de sujets permettrait de préciser à partir de quelle valeur seuil l'augmentation des éosinophiles bronchiques est cliniquement significative.

b/ Cette inflammation éosinophilique au travail n'est pas retrouvée de façon significative chez les patients présentant un asthme non professionnel. L'absence d'éosinophilie bronchique au travail pourrait donc avoir une valeur prédictive négative intéressante, bien que dans cette étude, les valeurs prédictives négative et positive d'avoir une augmentation des éosinophiles bronchiques au travail étaient équivalentes (71,4%) avec le seuil de 1%.

c/ L'addition de l'EI aux autres méthodes d'évaluation de l'AP pendant les périodes au travail et hors travail - comme les DEP et la mesure de la CP20 - semble améliorer la sensibilité et la spécificité diagnostique de ces tests quand on les compare au test de référence qu'est le TPS. Ceci est vrai lorsque la valeur seuil de 1% est utilisée. Cependant, la pertinence clinique de cette valeur relativement basse, reste à préciser. D'autre part, lorsque des valeurs plus élevées (2% ou a fortiori 6,4%) sont utilisées, le test gagne en spécificité, mais sa sensibilité décroît brutalement. Une éosinophilie bronchique élevée après une période au travail semble donc hautement spécifique – et donc intéressante pour le diagnostic positif, mais ce test devient moins intéressant pour le dépistage de l'AP, d'autant que dans notre étude près de la moitié des patients (45/94 patients) n'ont pu compléter l'exploration « au travail /hors travail ». Lorsque les données de ces trois examens sont concordantes (éosinophilie bronchique, variabilité de l'obstruction bronchique, variabilité de l'HRBNS), le diagnostic d'AP semble pouvoir être retenu ou exclu avec une marge de confiance satisfaisante.

d/ La faisabilité de l'EI est tout à fait comparable à celle des investigations habituellement réalisées pendant les périodes hors et au travail (DEP, CP20). Toutefois, il faut souligner la difficulté de réalisation de ces explorations en pratique clinique, qui s'est traduite par l'impossibilité, pour 45 sur 94 patients inclus (47,9%), de terminer l'étude. L'obstacle principal (18/45 patients) était l'impossibilité « pratique » de regrouper deux périodes d'exploration suffisantes « au travail » et « hors travail », soit que le patient ne puisse pas

(ou ne souhaite pas) retourner au travail, soit au contraire, qu'il ne souhaite pas (ou ne puisse pas) interrompre son travail pour des raisons sociales.

Enfin, et de façon inattendue, cette étude met en évidence l'existence d'une neutrophilie bronchique après les périodes de travail chez les patients n'ayant pas un asthme professionnel. Les mécanismes de cette inflammation sont probablement d'ordre irritatif, comme cela est observé chez des sujets sains ou asthmatiques après inhalation des certains agents physiques (96, 97), mais la question de la prise en charge de ces patients est soulevée, puisque si l'on suit les recommandations de la Société canadienne de thoracologie (54), ces patients devraient être retournés au travail. Aussi, la prise en charge de ces patients devrait être rediscutée, considérant qu'ils sont symptomatiques pendant le travail, qu'il existe une inflammation bronchique neutrophilique objective, et que l'inflammation neutrophilique est associée aux asthmes sévères (63).

Présentation de l'article 2

Le type de l'inflammation bronchique après exposition à un agent sensibilisant dépend de plusieurs facteurs, notamment de la durée d'exposition et de la concentration de l'agent (58). De plus, le mécanisme de l'inflammation est différent selon qu'il s'agit d'une réaction IgE médiée ou non. Les agents de haut poids moléculaire induisent une réaction à IgE, ainsi que certains agents de bas poids moléculaire (sels de platine, anhydride phtalique), mais le

mécanisme de l'inflammation bronchique déclenchée par une exposition aux agents de bas poids moléculaire est mal connu.

Dans l'article 1, les patients ayant un AP avaient une augmentation significative de l'éosinophilie bronchique après une période de travail sans distinction du poids moléculaire de l'agent en cause. Pourtant, plusieurs études retrouvent une neutrophilie bronchique après exposition en laboratoire aux isocyanates, chez des patients ayant un AP aux isocyanates (58, 90, 98).

Notre hypothèse était que l'inflammation bronchique est différente selon le mode et la durée d'exposition à l'agent - lors des périodes au travail et lors des TPS - et selon le poids moléculaire de l'agent. Nous avons donc réalisé une étude comparant l'EI de patients ayant un AP après la période d'exposition « naturelle » au travail, et après la réalisation d'un TPS. Nous avons également comparé les résultats obtenus avec les agents de haut et de bas poids moléculaire.

Article 2: article soumis pour publication à la revue Clinical and Experimental Allergy.

Airway inflammation induced by occupational agents at the workplace and in the laboratory

Catherine Lemièr MD,MSc, Frédéric Girard MD, Simone Chaboillez RT,
Karim Maghni DSc, PhD

Department of Chest Medicine, Hôpital du Sacré-Coeur, Montreal, University of Montreal,
(Qc) Canada,

Correspondence: Dr. C. Lemièr
Department of Chest Medicine
Sacré-Coeur Hospital
5400 West Gouin
Montréal, Québec, Canada, H4J 1C5
Tel : (514) 338 2796 Fax: (514) 338 3123
[REDACTED] [REDACTED]

Funding: Canadian Institutes of Health Research. Grant no : MOP42544

C. Lemièr is a scholar of the Canadian Institutes of Health Research

K. Maghni is a scholar of the Fonds de la recherche en santé du Québec

Word count: 2205

Abstract

Background: The type of airway inflammatory response induced by occupational agents and more specifically by isocyanates seems to be variable.

Objective: To compare the type of airway inflammation induced by isocyanates and by high-molecular-weight agents (HMW) after exposure in the laboratory and at the workplace in subjects with occupational asthma (OA).

Methods: Induced sputum was collected in subjects with OA due to isocyanates or to HMW after two weeks at their workplace and two weeks away from their workplace as well as before and after specific inhalation challenges to those agents performed in the laboratory.

Results Fifteen subjects were studied, 8 with OA due to isocyanates, 7 with OA due to HMW. Subjects with OA due to isocyanates showed an increased percentage of sputum eosinophils when at work. After exposure to the isocyanates in the laboratory, they showed predominantly a neutrophilic type of inflammation with increased levels of IL-8. In contrast, exposure to HMW induced sputum eosinophilia both at the workplace and in the laboratory without any change in the sputum neutrophil count.

Conclusion: In contrast with HMW, the exposure to isocyanates in the laboratory induces predominantly a neutrophilic inflammation whereas an eosinophilic type of inflammation is found after exposure to those agents at the workplace. The underlying mechanisms responsible for the diversity of airway inflammation after exposure to isocyanates at the workplace or in the laboratory need to be further investigated.

Keywords, Occupational asthma; airway inflammation; isocyanates; induced sputum; neutrophil; eosinophil.

Introduction

In the last years, the use of induced sputum has helped to characterize the airway inflammatory response occurring after exposure to occupational agents. These changes in airway inflammation have been reported most of the time after exposure to occupational agents in the laboratory (1-3). Only a few studies have reported the inflammatory changes that occurred during exposure at the workplace (4;5). Occupational agents induce most of the time an eosinophilic type of airway inflammation (3;6;7). Isocyanates which are chemicals widely used in the automotive industry have been reported to induce sputum eosinophilia after exposure in the laboratory in some instances (1). However, most studies reported a neutrophilic type of inflammation after exposure to these agents in the laboratory (2;8;9). The factors explaining the diversity of the type of inflammation induced by exposure to isocyanates are unknown.

We recently showed that the type of asthmatic reaction and the intensity of airway inflammation induced by exposure to isocyanates can be influenced by the concentration and the length of exposure to these agents (9). Whether the type of exposure itself can play a role in the type of airway inflammation induced after exposure to a specific agent has, to the best of our knowledge, never been examined.

We sought to investigate whether the changes in airway inflammation induced by the exposure to isocyanates or to high-molecular-weight agents (HMW) at the workplace are similar to those induced by the exposure to these agents in the laboratory.